

TURRIALBA

REVISTA INTERAMERICANA DE CIENCIAS AGRICOLAS

VOLUMEN 42

TRIMESTRE OCTUBRE-DICIEMBRE 1992

NUMERO 4

CODEN: TURRAB 42(4):421-530

Método de inoculación de <i>Ceratocystis fimbriata</i> Ell. & Halst. y evaluación de la resistencia en cacao. S. Núñez, J.J. Galindo, W. Phillips-Mora	421
Parámetros sedimentarios de algunos suelos del suroeste pampeano, Argentina M. del C. Blanco, L.F. Sánchez	430
Levantamento do subbosque de um reflorestamento monoespecífico de <i>Pinus elliottii</i> em relação as síndromes de dispersão J.A. Lombardi, J.C. Motta Junior	438
Número de plantas por mata en la fenología, crecimiento y rendimiento de <i>Zea mays</i> L. var. Olotón A. Márquez-Gómez, L. García-Barrios, J. Kohashi-Shibata	443
Effect of long term NII ₄ nutrition on growth and yield of wheat plants H.F. Causin, A.J. Barneix, M.R. Guitman	451
Efectos del virus del mosaico de la caña de azúcar raza B en el sorgo. II. Aspectos metabólicos. F. Leopardi, D. Pérez de Acosta	459
Análisis de conglomerados de los agrosistemas del Partido de Puán, Argentina A.O. Gargano, M.A. Adúriz, M.C. Saldungaray	466
Inoculación y riego con aguas residuales de casuarina en vivero H. Ramírez Saad, M. Valdés Ramírez, R. Cruz Cisneros	476
Effect of alternative methods of advancing early generation populations of common bean in the tropics J.A. Gutiérrez, S.P. Singh	482
Cuantificación de compuestos antinutricionales en cuatro especies silvestres de <i>Amaranthus</i> en Nuevo León, México. P. Wesche-Ebeling, D.I. González, G. García, R.K. Maiti	487
Interacción genotipo por ambiente en el rendimiento comercial del tomate en América Latina y el Caribe. R. Ortiz, J. Izquierdo	492
Grazing management and soil salinization in two Pampean Natraqualfs R.S. Lavado, G. Rubio, M. Alconada	500
Efecto de la concentración de nutrimentos en el desarrollo y fijación de nitrógeno de <i>Azolla filiculoides</i> I. Vidal, L. Longeri, M. Leal	509
Estudo comparativo entre quatro métodos de sustentação do maracujazeiro amarelo (<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg.). J.L.C. Faria, A.E.C. Rodríguez, G.R. Sander, G.A.B. Marodin	516
Studies on the ecology and behaviour of <i>P. xylostella</i> L.: Cannibalism induced by starvation P.J. Salinas	521
Asimilación de carbono y nitrógeno en hojas de café. II Fahl, M.L.C. Carelli, A.C. Magalhães	523
Comparaçao de substratos em alporques de cajueiro anão precoce (<i>Anacardium occidentale</i> L.) com consequente uso de aluminaçao F.A.G. Almeida, F.C.G. Almeida, J.J.L. Albuquerque, M.A. Rabeio Filho, C.A.M. Soares	528
Reseñas de libros	465, 486, 491



INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA

San José, Costa Rica

CR ISSN 0041 - 4360

Método de Inoculación de *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst. y Evaluación de la Resistencia en Cacao¹

S. Núñez*, J.J. Galindo**, W. Phillips-Mora**

ABSTRACT

The variability of 12 isolates of *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst. collected in different cocoa growing areas of Costa Rica was evaluated. Wide differences in growth, sporulation and virulence of the isolates were found. Two culture media were evaluated: potato-dextrose-agar-thiamine chloride and potato-dextrose-agar-cocoa pod powder. The latter produced the best growth and sporulation. Two inoculation methods and various concentrations of inocula were evaluated to define an adequate inoculation method for cocoa seedlings. The most efficient method was to make a small wound in the base of the stem with a pin, placing on this wound a piece of cotton with five drops of a suspension at 80 000 ascospores/ml. Following this methodology, seven open pollination families were evaluated. The best evaluation parameter used was the percentage of dead plants. The 'Catongo' (0%) and the 'IMC-67' (8.3%) families were resistant; the 'Pound-7' (16.7%), 'UF-677' (21.7%) and 'SPA-9' (22.2%) families were intermediate, and 'Pound-12' (33.3%) and 'SCA-6' (46.7%) families were susceptible.

RESUMEN

Se estudió la variabilidad de 12 aislamientos de *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst. recolectados en diferentes zonas cacaoteras de Costa Rica y se encontraron grandes diferencias en crecimiento, esporulación y virulencia. Simultáneamente se evaluaron dos medios de cultivo: papa-dextrosa-agar-clorhidrato de tiamina y papa-dextrosa-agar-mazorca de cacao en polvo, el que produjo mayor crecimiento y esporulación del hongo. Después se realizaron dos experimentos para definir una metodología adecuada de inoculación del hongo en plántulas de cacao. Con ese fin se evaluaron dos métodos de inoculación y varias concentraciones de inóculo. Se encontró que el método más eficiente era realizar una herida con un alfiler en la base del tallo y colocar sobre ella un algodón impregnado con cinco gotas de una suspensión de 80 000 ascósporas por mililitro. Haciendo uso de esta metodología se evaluaron siete familias de polinización abierta. El porcentaje de plantas muertas resultó ser el mejor parámetro de evaluación. Se obtuvieron como resistentes las familias de los cultivares Catongo (0%) e IMC-67 (8.3%); intermedias, las del Pound-7 (16.7%), UF-677 (21.7%) y SPA-9 (22.2%) y susceptibles, las familias de Pound-12 (33.3%) y SCA-6 (46.7%).

INTRODUCCION

La enfermedad llamada "mal de machete", causada por el hongo *Ceratocystis fimbriata*, es una amenaza potencial para la producción del cacao (*Theobroma cacao* L.) en América Central. La enfermedad se presenta en forma esporádica pero en países tales como Ecuador y Venezuela ha destruido plantaciones enteras, constituidas principalmente por árboles clonales con predominancia de los tipos criollos y trinitarios (3, 13).

C. fimbriata penetra los tejidos del árbol por heridas causadas por herramientas o insectos taladradores, principalmente del género *Xyleborus* (12). El hongo destruye la zona del cámbium y el xilema y ocasiona una decoloración de los tejidos, observándose numerosas líneas violáceas, cortas, paralelas, localizadas a lo largo de los haces fibrovasculares. Se observa formación de peritecios negruzcos en las grietas de la parte afectada, en los bordes de la heridas y en el interior de las galerías hechas por los insectos. Los árboles afectados se marchitan progresivamente. Las hojas necrosadas permanecen adheridas al árbol muerto por varios meses—síntoma característico de la enfermedad (3, 8).

¹ Recibido para publicación el 9 de noviembre de 1992.

* Trabajo de tesis para optar al grado de Ingeniero Agrónomo en la Universidad de Costa Rica. Investigación Auspiciada por la Red Regional de Generación y Transferencia de Tecnología en Cacao (PROCACAO), con fondos de la Regional Office for Central American Programs (ROCAP).

** Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, C. R.

El combate de la enfermedad por medios químicos y culturales no ha sido satisfactorio y, en la mayoría de los casos, ha resultado antieconómico. El método más efectivo y económico es el uso de material genético resistente (2, 3, 8).

Para la selección de cultivares resistentes se han usado diversos métodos de inoculación, dentro de los cuales los más importantes son: inoculaciones de trozos de madera (2, 3); método colorimétrico (10); e inoculaciones directas en la planta (1, 4). Algunos de los métodos empleados han sido poco precisos, sin correlación entre la mortalidad en el campo y la reacción en el laboratorio. El método colorimétrico es costoso y la reacción es afectada por cambios en las condiciones ambientales (9).

En las evaluaciones de resistencia, es fundamental contar con un método confiable de inoculación que asegure una presión de inóculo uniforme y adecuada, de tal forma que los materiales puedan ser claramente separados de acuerdo con su resistencia o susceptibilidad al patógeno. Asimismo es fundamental conocer los límites de variabilidad del patógeno, para seleccionar los aislamientos más representativos de sus poblaciones en el campo.

Las evaluaciones de la resistencia de materiales de cacao a *C. fimbriata* son de gran importancia, sobre todo en este momento, pues se están incrementando, en algunas regiones del mundo, los sistemas intensivos de producción, que incluyen la siembra de cacao clonal, para los cuales este hongo constituye una de las principales amenazas.

Los objetivos de esta investigación fueron: caracterizar el crecimiento *in vitro* de aislamientos de *C.*

fimbriata recolectados en diferentes zonas cacaoteras de Costa Rica; diseñar un método de inoculación de *C. fimbriata* en plantas de cacao y evaluar con este método la resistencia de plantas provenientes de polinización abierta.

MATERIALES Y METODOS

Caracterización de doce aislamientos de *C. fimbriata*.

Se estudió el crecimiento y esporulación *in vitro* de 12 aislamientos de *C. fimbriata* procedentes de diferentes áreas cacaoteras de Costa Rica (Cuadro 1). Cada uno fue evaluado en dos medios de cultivo: PDA-tiamina (papa-dextrosa-agar-clorhidrato de tiamina,) y PDA-cacao (papa-dextrosa-agar-polvo de mazorca de cacao). El polvo de cacao se obtuvo a partir de la corteza de frutos de cinco meses de edad del cv. UF-676, que se secó al horno durante tres días entre 65 °C y 70 °C, y luego se molió.

Se realizaron cuatro repeticiones por cada aislamiento y por cada medio de cultivo; cada una de ellas constituida por un plato Petri, donde el hongo creció durante 16 días en luz continua y a 25 grados centígrados. El diseño utilizado fue un irrestricto al azar. A partir del segundo día y hasta el decimosexto día se midió el crecimiento lineal de la colonia. A los 10 d se evaluó la forma, color y presencia de anillos; a los 10 d y 15 d el número de peritecios con ascósporas. Esta

Cuadro 1. Procedencia de los aislamientos de *fimbriata*, crecimiento lineal y peritecios maduros en dos medios de cultivo (Turrialba, 1989).

Aislamiento	Procedencia	Crecimiento lineal (cm) (16 d)		Peritecios maduros (cm ²) (15 días)	
		PDA-cacao	PDA-tiamina	PDA-cacao	PDA-tiamina
910	CATIE-Turrialba	5.31 bc ²	3.6 bcd	400 a	268 a
R3		5.6 bc	4.0 bc	175 bc	0 c
959	Bananito, Limón	8.7 a	7.4 a	28 b	43 bc
3.388	Siquirres, Limón	3.9 d	2.9 d	170 bc	46 bc
4.188	Siquirres, Limón	4.8 cd	3.3 cd	138 bc	0 c
958	CATIE, Turrialba	5.3 bc	3.7 bcd	155 bc	0 c
966	Río Frio, Heredia	5.9 b	4.6 b	125 bc	10 c
957	Bananito, Limón	4.7 cd	3.2 cd	95 cde	0 c
909	CATIE, Turrialba	4.7 cd	3.2 cd	150 bc	0 c
0189	CATIE, Turrialba	5.0 bc	3.4 cd	190 bc	0 c
946	La Lola, Limón	5.3 bc	3.5 cd	72 cde	0 c
965	Cahuita, Limón	8.6 a	7.2 a	45 cde	103 b
961	Bananito, Limón	5.6 bc	3.8 bcd	36 cde	23 bc

1 Registro de diagnóstico, Laboratorio de Fitopatología, CATIE.

2 Valores con igual letra en una misma fila no tienen diferencias significativas, según Prueba de Duncan (P=0.05).

variable se determinó mediante la observación al estereoscopio de dos discos de agar obtenidos de cada plato Petri, uno de la parte central de la colonia y otro de la periferia de la misma. Los peritecios con ascósporas fueron aquellos que presentaban en la parte superior del cuello del peritecio una masa de ascósporas pegadas a las fimbrias. Se obtuvo un promedio de ambos discos.

Estas evaluaciones permitieron seleccionar los aislamientos de *C. fimbriata* representativos de la variabilidad morfológica y de producción de inóculo, para ser usados en los experimentos de inoculación artificial que se describen a continuación.

Evaluación de dos métodos de inoculación y cinco concentraciones de inóculo

Se inocularon plantas de cuatro meses de edad provenientes de semillas de polinización abierta de los cultivares IMC-67 y SCA-6, catalogados como resistente y susceptible a *C. fimbriata* (3). Se usaron dos métodos de inoculación:

- Herida causada por alfiler: se introdujo la punta de un alfiler estéril en el primer tercio de la altura del tallo, a una profundidad uniforme de 0.45 mm que nunca llegó a traspasar el tallo.
- Herida causada por bisturí: en el primer tercio de la altura del tallo se realizó una herida rectangular de aproximadamente 0.9 mm x 0.4 mm con un bisturí núm. 4. En ambos métodos, la herida se cubrió con un algodón sujetado con cinta adhesiva, en el cual se colocaron cinco gotas (aproximadamente 0.2 ml) de una suspensión recién preparada de ascósporas del aislamiento 0189 de *C. fimbriata*.

La suspensión se preparó a partir de colonias con 21 d de edad, a las que se les extrajo las ascósporas removiendo de las cabezas de los peritecios. Aunque se trató de hacer suspensiones sólo de ascósporas, siempre se observó un pequeño porcentaje de esporas asexuales. Las esporas fueron homogenizadas en agua destilada más Tween 80 al 0.01%; la suspensión se licuó tres veces a intervalos de 5 min e inmediatamente se calibró con un hematocímetro.

Para cada método de inoculación se midieron cinco concentraciones de inóculo: 0 x 10³, 15 x 10³, 30 x 10³, 45 x 10³ y 60 x 10³ ascósporas por mililitro. Se inocularon ocho plantas por cultivar por método por

concentración, y se usó un diseño de bloques completos al azar, con un arreglo factorial de los tratamientos y cuatro repeticiones. Se incluyó un testigo que consistió en inocular los cvs. IMC-67 y SCA-6 con 60 000 esporas por mililitro sin hacer una herida en la planta.

A los 45 días de la inoculación, se evaluaron los siguientes parámetros: incidencia (determinada con base en el número de plantas muertas y en el número de plantas con lesión) y severidad (tamaño de lesión en el tallo). Después de la última evaluación se hicieron reaislamientos del agente causal en PDA-cacao para confirmar su identidad.

Evaluación de tres concentraciones de inóculo y dos aislamientos de *C. fimbriata*.

Con el método del alfiler, seleccionado en el experimento anterior, se contaminaron con el hongo siete plantas por tratamiento de los cvs. SCA-6, UF-677 e IMC-67, reportados como susceptibles los dos primeros y resistente, el último (3). Se realizaron tres repeticiones. Se utilizaron los aislamientos 0189 y 957 que representaban los rangos de variabilidad patogénica del hongo y se estimaron las siguientes concentraciones: 80 x 10³, 100 x 10³ y 120 x 10³ ascósporas por mililitro. Se efectuaron reaislamientos del hongo en el medio PDA-cacao. De las observaciones hechas en esta prueba, se escogieron el aislamiento y la concentración de inóculo para la siguiente.

Evaluación de la reacción a *C. fimbriata* de descendientes de cacao de polinización abierta

Con el método de herida de alfiler y el aislamiento 957 a una concentración de 80 000 ascósporas por mililitro, seleccionados en los experimentos anteriores, fueron inoculadas 15 plantas provenientes de semilla de polinización abierta de cada uno de los siguientes cvs. SCA-6, IMC-67, UF-677, SPA-9, Pound-12 y Catongo.

RESULTADOS

Caracterización de 12 aislamientos de *C. fimbriata*.

Los aislamientos mostraron importantes diferencias en el crecimiento lineal de la colonia y en la cantidad de peritecios, pero tuvieron un comportamien-

to más uniforme en la forma, apariencia, color y presencia de anillos.

Se presentaron variaciones debido al medio de cultivo utilizado. En PDA-cacao hubo mayor crecimiento lineal que en PDA-tiamina. En el medio PDA-cacao el crecimiento lineal varió entre 8.7 cm para el aislamiento 959 (A-959) y 3.9 cm para el A-3.388. En PDA-tiamina estas variaciones fueron de 7.4 cm para A-959 y 2.9 cm para A-3.388. En ambos medios, tanto A-959 como A-965 mostraron los máximos crecimientos y presentaron diferencias significativas ($P = 0.05$) respecto de los otros aislamientos. Asimismo, A-3.388 tuvo el mínimo crecimiento en los dos medios de cultivo evaluados. Los restantes aislamientos mostraron crecimientos intermedios entre estos valores, pero guardaron la misma secuencia en ambos medios (Cuadro 1).

En la mayoría de los aislamientos el crecimiento de las colonias fue circular, excepto en A-3.388 y A-4.188, en los que se dio un crecimiento irregular en el medio PDA-cacao. Estos aislamientos se caracterizaron por tener un micelio poco denso en PDA-cacao y uno más denso en PDA-tiamina. Excepto los aislamientos en 959, 909 y 965, el micelio creció más denso en PDA-tiamina. En PDA-cacao, el micelio creció poco denso, con excepción de los aislamientos R3, 961, 957 y 946. Los aislamientos 946, 957, 0189 y R3 presentaron un crecimiento ligeramente irregular en el medio PDA-tiamina. El color de la colonia no varió con el medio de cultivo. De los 12 aislamientos evaluados, el 58% presentó color gris claro y el 42%, gris oscuro. Solamente el aislamiento 910 presentó anillos concéntricos, que fueron observados en ambos medios de cultivo.

La producción de peritecios maduros en ambos medios de cultivo fue mayor a los 15 d que a los 10 días. Para todos los aislamientos la mayor producción ocurrió en el medio PDA-cacao. A los 10 d la cantidad de peritecios por centímetro cuadrado varió entre 350 para A-910 y 28 para A-961, lo que significa una diferencia del 1.250 por ciento. La producción de peritecios varió entre 400 para A-910 y 35.5 para A-961 a los 15 días. En PDA-tiamina, a los 10 d, un 75% de los aislamientos no llegó a producir peritecios; aun a los 15 d, un 54% no habían producido peritecios. A-910 presentó la mayor cantidad de peritecios en este medio (268 por centímetro cuadrado). No se encontró relación entre la producción de peritecios y la procedencia de los aislamientos. Al observar colonias de más de 30 d se observó que las cabezas de los peritecios tomaban una coloración más oscura y se notaban más secas en el medio PDA-cacao (Cuadro 1).

Evaluación de dos métodos de inoculación y cinco concentraciones de inóculo

En el cv. SCA-6, la mortalidad de plantas, al realizar la herida con alfiler, fue superior que entre las heridas con bisturí. Para el cv. IMC-67 esta mortalidad fue igual para ambos tipos de herida. Con ambos métodos de inoculación, al incrementarse la concentración de inóculo, también subió la mortalidad. Esto fue muy evidente para el cv. SCA-6 y la herida con alfiler, en el cual se obtuvo la máxima mortalidad. En el cv. IMC-67 se alcanzó una menor mortalidad para ambos métodos de herida, con todas las concentraciones de inóculo utilizadas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de dos métodos de Inoculación y cinco concentraciones de inóculo de *C. fimbriata* en el porcentaje de plantas muertas, con lesión y tamaño de la lesión, en dos cultivares de cacao (Turrialba 1989).

Concentración de inóculo (ml)	Plantas muertas (%)		Plantas con lesión (%)		Tamaño de lesión (cm)	
	Alfiler	Bisturí	Alfiler	Bisturí	Alfiler	Bisturí
"IMC-67"						
0	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0
15 x 103	0.0 ¹ a	6.3 ab	6.3 a	15.6 ab	3.5 a	2.6 a
30 x 103	18.8 b	9.4 ab	37.5 b	18.8 ab	3.7 a	2.2 a
45 x 103	12.5 ab	21.9 b	37.5 b	25.0 ab	2.8 a	3.8 a
60 x 103	21.8 b	15.6 ab	34.4 b	34.4 b	4.3 a	3.9 a
"SCA-6"						
0	0.0 a	0.0	0.0 a	0.0 a	0.0	0.0
15 x 103	18.8 ab	21.9 b	37.5 b	37.5 ab	3.3 a	3.0 a
30 x 103	34.4 bc	15.6 ab	28.1 b	28.1 b	2.8 a	2.5 a
45 x 103	53.1 c	21.9 b	43.8 b	43.8 b	3.8 a	3.2 a
60 x 103	59.4 c	31.2 b	46.9 b	46.9 b	4.1 a	3.7 a

1 Valores en la misma columna seguidos por la misma letra no tienen diferencias significativas, según prueba de Duncan ($P=0.05$)

La incidencia de plantas con lesión fue más alta con el método de herida por alfiler, entre 0% y 34.4% para el cv. IMC-67, y entre 0% y 78.1% en el cv. SCA-6. En ambos cultivares y tipos de herida, el aumento de la concentración del inóculo también incrementó la incidencia de plantas con lesión; sin embargo, en estos casos, el promedio siempre fue mayor en el cv. SCA-6. Asimismo, en el cv. IMC-67 la incidencia de plantas con lesión fue siempre menor que en el cv. SCA-6 (Cuadro 2).

En ambos cultivares, la herida con alfiler presentó una lesión ligeramente mayor. En ellos, al aumentarse las concentraciones de inóculo, la lesión tendió a crecer. Sin embargo no se encontraron diferencias significativas ($P = 0.05$) para este factor. Los tamaños de lesión fueron muy similares para ambos cultivares (Cuadro 2).

Evaluación de tres concentraciones de inóculo y dos aislamientos de *C. fimbriata*

El mayor porcentaje de mortalidad en los tres cultivares estudiados se obtuvo en el aislamiento 957, el cual produjo valores considerablemente mayores que los logrados con el 0189 (Cuadro 3). Para ambos, los cultivares mostraron un porcentaje de mortalidad en el siguiente orden ascendente: IMC-67, SCA-6 y UF-677. Al incrementarse la concentración de inóculo, el porcentaje de mortalidad subió ligeramente pero, en términos generales, no se encontraron diferencias significativas debidas a este factor (Cuadro 3).

Para los tres cultivares, el porcentaje de plantas con lesión fue más alto en el aislamiento 957; no obstante sus valores no difirieron mucho de los obtenidos en el 0189. No hubo diferencias significativas para las concentraciones de inóculo, salvo en el caso del cv. IMC-67 en el que se incrementó el porcentaje de plantas con lesión con el aumento de la concentración de inóculo (Cuadro 3).

El tamaño de la lesión fue mayor en el aislamiento 957 en los tres cultivares. En ninguno de ellos se alcanzaron diferencias significativas por la concentración del inóculo, excepto en el cv. UF-677 y en el aislamiento 957, en los cuales, con el crecimiento de la concentración de inóculo, se redujo el tamaño de la lesión. Ello señaló diferencias significativas entre 8×10^4 esporas por mililitro y las otras concentraciones de inóculo. Los promedios de lesión fueron menores en el cv. IMC-67 en ambos aislamientos, seguido por el cv. SCA-6 y por el cv. UF-677 en el que se encontraron los máximos valores (Cuadro 3).

Evaluación de la reacción a *C. fimbriata* de descendientes de cacao de polinización abierta

La mortalidad de plantas varió entre 46.7% ('SCA-6') y 0% ('Catongo'). Los cvs. Pound-12, SPA-9, UF-677 y Pound-7 presentaron porcentajes intermedios de mortalidad entre 33.3% y 8.3 por ciento. El cv. IMC-67 presentó un bajo porcentaje de mortalidad del 8.3% (Cuadro 4).

Cuadro 3. Efecto de tres concentraciones de inóculo y dos aislamientos de *C. fimbriata* en el porcentaje de plantas muertas, plantas con lesión y tamaño de la lesión en tres cultivares de cacao (Turrialba 1989).

	Plantas muertas (%)		Plantas con lesión (%)		Tamaño de lesión (cm)	
	0189	957	0189	957	0189	957
'IMC-67'						
8 x 10 ⁴	9.5 a ¹	9.5 a	66.7 a	38.1 a	2.1 a	3.0 a
10 x 10 ⁴	4.8 a 28.6 a	38.1 a	61.9 ab	2.8 a	2.3 a	
12 x 10 ⁴	14.3 a	57.1 b	61.9 a	76.2 b	3.1 a	3.8 a
'SCA-6'						
8 x 10 ⁴	19.1 a	52.4 a	52.4 a	85.7 a	2.8 a	3.5 a
10 x 10 ⁴	33.3 a	71.4 a	66.7 a	81.0 a	2.6 a	3.5 a
12 x 10 ⁴	38.1 a	52.4 a	85.7 a	81.0 a	2.7 a	3.3 a
'UF-677'						
8 x 10 ⁴	38.1 a	52.4 a	71.4 a	76.2 a	3.2 a	6.0 a
10 x 10 ⁴	42.9 a	61.9 a	80.9 a	76.2 a	3.7 a	3.9 b
12 x 10 ⁴	47.6 a	66.7 a	76.2 a	90.5 a	3.3 a	3.4 b

1 Valores en la misma columna seguidos por la misma letra no tienen diferencias significativas, según prueba de Duncan ($P=0.05$).

Cuadro 4. Efecto de la inoculación de *C. fimbriata* en las descendencias de cacao de polinización abierta, sobre el porcentaje de mortalidad, porcentaje de plantas con lesión y promedio de lesión.

Cultivar	Plantas muertas %	Plantas con lesión %	Tamaño de lesión (cm)
'SCA-6'	46.7 a2/	80.0 a	4.0 a
'Pound-12'	33.3 ab	81.7 a	4.8 a
'SPA-9'	22.2 bc	80.0 a	4.8 a
'UF-677'	21.7 bc	65.0 ab	3.6 a
'Pound-7'	16.7 c	58.3 b	3.9 ab
'IMC-67'	8.3 d	53.3 b	3.5 bc
'Catongo'	0.0 c	3.3 c	2.5 c

1 Los siete cultivares fueron inoculados con el aislamiento 957, a una concentración de 80 mil esporas por mililitro.

2 Valores en la misma columna seguidos por la misma letra no tienen diferencias significativas según prueba de Duncan ($P=0.05$).

Los máximos porcentajes de plantas con lesión se produjeron en los cvs. SCA-6, Pound-12, SPA-9 y UF-677, cuyos valores fueron superiores al 65% y para los cuales no se observaron diferencias significativas ($P = 0.05$). El cv. Catongo mostró el mínimo porcentaje que fue de 33.3% en tanto que 'Pound-7' e 'IMC-67' tuvieron un 58.3% y 53.3%, respectivamente (Cuadro 4).

Se dieron diferencias significativas entre los cultivares para el tamaño promedio de lesión. Los cvs. SCA-6, Pound-12, SPA-9 y Pound-7 presentaron los promedios de lesión más altos, variando entre 3.9 cm y 4.8 centímetros. Los promedios de lesión más bajos correspondieron a 'Catongo' con 2.5 cm y a 'IMC-67' con 3.5 cm (Cuadro 4).

DISCUSION

Se determinó gran variabilidad entre los aislamientos de *C. fimbriata* en cuanto a su crecimiento lineal y esporulación. En relación con otras características, la población evaluada fue más uniforme; sin embargo, algunas variables cualitativas, tales como la forma de la colonia y la presencia de anillos, permitieron caracterizar mejor algunos de los aislamientos.

Esa caracterización posibilitó la selección de los aislamientos representativos de la variabilidad genética del patógeno, para utilizarlos en las evaluaciones de resistencia, en las cuales se observó que los aislamientos mostraban importantes diferencias en su virulencia, la cual no estaba relacionada con sus características

morfológicas y fisiológicas. Las variaciones dentro de una misma especie de hongos han sido mencionadas por Greene y Barnett (7).

Para todos los aislamientos, el crecimiento y la esporulación fueron mayores en el medio PDA-cacao, que concuerda con lo encontrado por Montes de Oca (9) y Gardella (6) al evaluar varios medios de cultivo: ellos señalaron un crecimiento mayor de *C. fimbriata* en este medio. El inconveniente de usar polvo de mazorca de cacao, es que no se puede estandarizar totalmente el medio, pues pueden darse variaciones por el tipo de material de cacao usado, la edad de la mazorca y el proceso mismo para obtener el polvo de la mazorca.

En el PDA-tiamina, el crecimiento y la esporulación fueron menores, a pesar de que esta vitamina es indispensable para el crecimiento del hongo. En la investigación se usó la cantidad recomendada por Ryniers (11) y Espinoza y Delgado (5). Los resultados de este estudio concuerdan con los de Ryniers (11), quien encontró a los 10 d de edad que el crecimiento de las colonias varió entre 5 cm y 9 centímetros. El menor crecimiento y esporulación en PDA-tiamina podría indicar una concentración alta de esta vitamina, la cual sobrepasó los niveles propuestos por Greene y Barnett (7) de 100 mg de tiamina por litro de medio. Espinoza y Delgado (5) mencionan que la esporulación en este medio era adecuada, pero no la comparan con el medio PDA-cacao ni presentan datos sobre la misma.

Las variables cualitativas fueron muy útiles para la caracterización de algunos aislamientos, pues fueron

muy evidentes. Eso sucedió con la presencia de anillos, característica observada únicamente en el aislamiento 910.

El color de la colonia varió entre diferentes tonalidades de gris. Al inicio presentaron un color blanquecino, pero posteriormente se oscurecieron por la formación de peritecios y macroconidios, lo cual ocurre aproximadamente a los tres o cuatro días (1). El cambio de color podría ser un indicativo del momento ideal para extraer el inóculo de las colonias.

La edad de las colonias usadas en los tres experimentos para la obtención del inóculo fue de 21 d, la misma usada por Chong (1) y Soria y Salazar (13). Esta edad fue adecuada, ya que permitió lograr fácilmente las concentraciones requeridas y una alta efectividad en las inoculaciones. La utilización de colonias más jóvenes podría dar aparentemente buenos resultados, como lo demuestran los datos obtenidos por Domínguez (4), quien al usar platos de 12 d de edad consiguió mortalidades del 50% al 98 por ciento. Estos resultados se deben, probablemente, a que *C. fimbriata* requiere poco tiempo para producir conidios (48 h) y para la maduración de sus peritecios (una semana); así se puede tener inóculo viable en un corto período de tiempo (1). Por el contrario, el uso de colonias muy viejas induce a la pérdida de viabilidad del inóculo. Al respecto, Espinoza y Delgado (5) al probar el inóculo conseguido en platos de 30 d a 75 d encontraron que el desarrollo de las lesiones de *C. fimbriata* en trozos de ramas inoculadas, disminuyó con la edad de la colonia, de tal manera que las colonias muy viejas tuvieron un crecimiento muy pobre.

En los programas de mejoramiento es importante considerar la variabilidad genética del patógeno; de ese modo, cuando se hagan evaluaciones de materiales, se utilizan los aislamientos más representativos de la población del organismo en el campo. De los aislamientos usados en la inoculación, el 957 fue más virulento que el 0189. Estos dos aislamientos se seleccionaron durante la caracterización *in vitro*, por representar los límites de variabilidad patogénica y por su diferente procedencia: 0189 fue aislado en Turrialba y 957 en Limón.

C. fimbriata requiere heridas para su penetración (12). Esto fue confirmado en esta investigación al realizar inoculaciones en plantas sin herida de los cvs. IMC-67 y SCA-6, en los cuales no se determinaron plantas con síntomas.

Aunque el método con bisturí produjo una herida más grande y, consecuentemente, una mayor posibilidad de infección, en la presente investigación se encontró que el método con alfiler fue más eficiente. Esto puede ser porque la herida con alfiler es más profunda y afecta los tejidos internos de la planta. Además, este tipo de herida presenta similitudes con las producidas por los insectos del género *Xyleborus*, a los que se relaciona insistentemente con la enfermedad. Como ventaja comparativa se puede mencionar, además, que el alfiler produce una herida más uniforme, con lo que las variaciones debidas al procedimiento experimental se reducen. Cuando se realiza una herida con bisturí se rasgan más los tejidos superficiales y se pueden inducir reacciones fisiológicas *in situ* como la oxidación de fenoles, que afectan el desarrollo del hongo.

Para el cv. SCA-6, la herida causada por alfiler tuvo mayor efecto en los porcentajes de mortalidad y de plantas con lesión, que en el cv. IMC-67 donde fueron menores. Con bisturí la mortalidad fue ligeramente mayor en el cv. SCA-6.

Es importante tener en cuenta que la selección de concentraciones de inóculo apropiadas es fundamental, puesto que las muy bajas podrían proporcionar escapes a la enfermedad y las muy altas podrían sobrepasar los límites de la resistencia intrínseca de los cultivares.

Al evaluar cinco concentraciones de inóculo (de 0 a 60 000 esporas por mililitro), se observó un aumento en el porcentaje de mortalidad y de plantas con lesión al incrementarse la concentración. Estos resultados sugieren que 60 000 esporas por milímetro es todavía una concentración baja de inóculo, pues es posible producir elevaciones en las variables de la enfermedad con el aumento de la concentración.

En el cv. SCA-6, el aumento de las concentraciones de inóculo tuvo mayor efecto sobre el porcentaje de mortalidad y de plantas con lesión, que en el cv. IMC-67, donde fue menos significativo.

La lesión promedio fue muy similar para los dos cultivares. Se encontró un desarrollo de la lesión similar al descrito por Chong (1), quien indica que el hongo una vez que ha penetrado produce la enfermedad a través de los vasos conductores. En esta investigación se observó el progreso de la necrosis hacia abajo y hacia los lados de los vasos del xilema, pero mayormente hacia arriba de la zona inoculada, notándose partes necrosadas aisladas sin conexión aparente con el resto de la necrosis.

Dado el comportamiento de la concentración de inóculo obtenido en el experimento anterior, en un segundo ensayo se trató de determinar el efecto de concentraciones superiores a 60 000 esporas por mililitro. Se determinó que al aumentar la concentración se dio un ligero incremento en el porcentaje de mortalidad y de plantas con lesión; sin embargo no fueron significativos seguramente porque aún la cantidad de 80 000 esporas por mililitro se encuentra dentro de los límites de concentración que permite diferenciar la susceptibilidad de los cultivares.

Los porcentajes de mortalidad y plantas con lesión fueron siempre mayores para los cvs. SCA-6 y UF-677 y menores para el cv. IMC-67. Esto concuerda con lo reportado por Soria y Salazar (13) acerca de la reacción de los cultivares. El comportamiento de los cvs. SCA-6 y UF-677 fue similar, comportándose ambos como susceptibles. El cv. IMC-67 mostró mayor resistencia. La selección inicial de estos tres cultivares se realizó con base en su reacción a *C. fimbriata* (13).

Con el método de la inoculación, la concentración de inóculo y el aislamiento, seleccionados anteriormente, se evaluó la descendencia de polinización abierta de siete cultivares de cacao. Los cultivares se seleccionaron por la disponibilidad de semilla, la posible variación en su reacción a *C. fimbriata*, su utilización como padres en la producción de semilla híbrida y su recomendación como patrones para plantaciones intensivas con material clonal. El método usado en esta investigación, además de obtener resultados reproducibles, es fácil de llevar a cabo y es económico. Aunque se advirtió una alta incidencia de la enfermedad en los cultivares probados, se pudieron separar por su grado de resistencia o susceptibilidad a *C. fimbriata*.

Los cvs. Catongo e IMC-67 mostraron la más alta resistencia. El que mejor se comportó fue el cv. Catongo con 0% de mortalidad, lo que indica su grado de resistencia. Ryniers (11), al inocular plantas de 2.5 meses del cruce 'Catongo' x 'Pound-7', lo encontró también resistente.

La reacción de algunos cultivares no concuerda con los informes de autores como Chong (1), que, al estimar plantas clonales de seis meses de edad del cv. SCA-6, lo menciona como resistente a este material; sin embargo, en la presente investigación se comportó

como susceptible. Se debe considerar que el material usado en este estudio es de polinización abierta, en la cual no se conoce el nivel de resistencia del padre. Otro elemento por considerar fue que Chong (1) usó plantas de diferente edad y otra metodología de inoculación (discos de micelio-agar) que pudo influir en los resultados.

En el experimento 26 de la estación "La Lola" del CATIE (6) se encontró una mortalidad para 'Pound-12' del 80 % en 12 años de registro, lo cual pareciera confirmar los resultados de la presente investigación; sin embargo, hay que considerar que la mortalidad de árboles en ese experimento fue atribuida a *C. fimbriata*, pero no fue corroborada mediante reaislamientos del hongo en laboratorio, por lo que no se pueden descartar otras causas en la muerte de árboles.

El cv. SPA-9 en esta investigación presentó alta mortalidad, que coincide con Ryniers (11), quien encontró que el cv. SPA-9, en cruces recíprocos con el cv. UF-613, era susceptible. No obstante, en las investigaciones de Delgado (2) y Delgado y Echandi (3) con trocitos de ramas maduras desprendidas del árbol, el cv. SPA-9 mostró una reacción altamente resistente. Estas diferencias pueden explicarse por el uso de tejidos no activos de la planta y las características de los aislamientos utilizados.

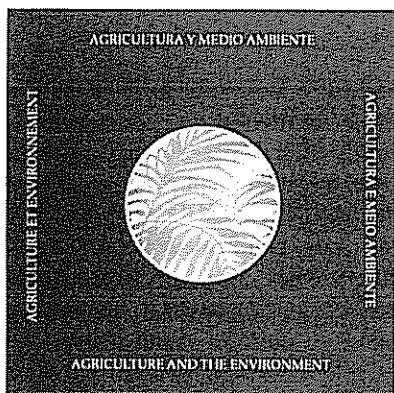
De las variables medidas, el porcentaje de plantas muertas fue el que tuvo mayor relevancia. Este parámetro experimentó mayor incremento en los primeros 25 d, aunque se mantuvo durante los 45 d de evaluación, por lo que sería conveniente hacer un estudio para un periodo mayor de tiempo.

Los resultados de esta investigación demuestran la amplia variabilidad de *C. fimbriata* en Costa Rica, que implica un alto riesgo en el establecimiento de plantaciones clonales, en las cuales se utilicen uno o pocos cultivares de cacao. Además indica los amplios límites de virulencia detectados, aspecto muy importante para tener en cuenta en el programa de mejoramiento. También se demuestra la susceptibilidad a *C. fimbriata* de varios cultivares usados por los agricultores. Asimismo se establece un método confiable para detectar niveles de resistencia y susceptibilidad a *C. fimbriata* en el germoplasma de cacao.

LITERATURA CITADA

1. CHONG, F.L. 1961. Desarrollo de la infección natural de la resistencia clonal a *Ceratocystis fimbriata*. Tesis Ing. Agr. Ec., Universidad de Guayaquil, Facultad de Agronomía y Veterinaria. 120 p.
2. DELGADO, C.J. 1964. Estudio de la resistencia del cacao al mal del machete producido por *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halsted. Tesis Mag. Sc., Turrialba, C.R., IICA. 42 p.
3. DELGADO, C.J.; ECHANDI, E. 1965. Evaluación de la resistencia de especies y clones de cacao al mal del machete provocado por *Ceratocystis fimbriata*. Turrialba 15:286-289.
4. DOMINGUEZ, P.F. 1971. Avance del trabajo sobre selección de plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) por resistencia a *Ceratocystis fimbriata*. Revista de la Facultad de Agronomía 6(2):5-29.
5. ESPINOZA, A.; DELGADO, J. 1970. Factores intrínsecos que influyen en la eficacia de la prueba de laboratorio usada para evaluar la resistencia a *Ceratocystis fimbriata*. Turrialba 21:13-17.
6. GARDELLA, S.D. 1980. Reaction of cocoa clones and hybrids to *Ceratocystis fimbriata* and inheritance of resistance. Tesis Mag. Sc., Turrialba, C.R., CATIE. 55 p.
7. GREENE, N.L.; BARNETT, H.L. 1951. Physiology of the fungi. New York, McGraw-Hill. 464 p.
8. MALAGUITI, G. 1956. La necrosis del tronco del cacao en Venezuela. Agronomía Tropical 5(4):207-226.
9. MONTES DE OCA, H.A. 1975. Estudio de la resistencia a *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halsted en híbridos y clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) utilizando dos métodos de evaluación. Tesis Mag. Sc., Turrialba, C.R., CATIE. 62 p.
10. RUIZ, M.; JIMENEZ, S.W.; SORIA, J. 1969. Método colorimétrico para evaluar la resistencia del cacao (*Theobroma cacao* L.) a *Ceratocystis fimbriata*. Turrialba 19:518-521.
11. RYNIERS, K. 1987. Estudio de la resistencia de seis híbridos de cacao a *Ceratocystis fimbriata*. Turrialba, C.R., CATIE, Laboratorio de Fitopatología. 23 p. (Mimeografiado).
12. SAUNDERS, J.L. 1965. El complejo *Xyleborus-Ceratocystis* del cacao. Cacao 10(2):8-14.
13. SORIA, J.; SALAZAR, L.G. 1965. Pruebas preliminares de resistencia de *Ceratocystis fimbriata* en clones de cacao. Turrialba 15:290-295.

**LIBRO
RECOMENDADO**



US\$20.00

Agricultura y Medio Ambiente. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Cuatrilingüe en español, inglés, francés y portugués. 76 p. ISBN 92-9039-193-6.

El testimonio gráfico de fotografías de diversos lugares del continente americano plasma el dramático dilema de cómo el desbordante crecimiento tecnológico está llevando a la humanidad al borde de la destrucción de su ambiente natural. La gran calidad artística de esta publicación fue posible, también, gracias al generoso apoyo de la Agencia Canadiense para el Desarrollo Internacional (ACDI).

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.

Parámetros Sedimentarios de Algunos Suelos del Suroeste Pampeano, Argentina¹

M. del C. Blanco*, L.F. Sánchez*

ABSTRACT

The sedimentary parameters of five soils developed on eolian loess of the Llanura Subventánica Occidental Bonaerense, with texture differences as well as relative striking differences in soil morphology, are studied in this paper. Recent papers and our observations describe texture variations leading to this study, indicating that the loessic cover is not homogeneous as stated in previous works. Particle size distribution was determined, along with other routine analyses. The subfractions: very fine sand (50 - 100 μm), fine (100 - 250 μm), medium (250 - 500 μm), coarse (500 - 1000 μm) were sorted by sieving, while silt and clay were sorted by the pipette method. The sedimentary parameters: Mean grain size (Mz), sorting (So), skewness (SK), and kurtosis (Kg) have been calculated. The aim of this paper is to interpret texture characteristics and sedimentary parameters to develop interpretation of the origin, deposition environment, transport and sorting mechanisms of these sediments. It is concluded that the loessic sediments of the Llanura Subventánica Occidental Bonaerense are heterogeneous, related to a mantled eolian deposition, episodically retransported, decreasing their sorting. The soil parent materials differ between profiles, but the presence of lithological discontinuities within horizon sequences is disregarded since we did not observe striking differences in cumulative curves and statistical parameters within the profiles.

Key words: Pampean Region, texture, sedimentary parameters, heterogeneity, extended plains, undulated landscape.

INTRODUCCION

La Llanura Subventánica Occidental Bonaerense constituye el sector suroccidental de la región pampeana argentina. Geográficamente se extiende desde los contrafuertes de la Sierra de la Ventana hasta la costa atlántica, distante unos 600 km al

RESUMEN

Se estudiaron los parámetros sedimentarios de cinco suelos desarrollados en sedimentos eólicos loésicos de la Llanura Subventánica Occidental Bonaerense, que presentan variaciones texturales interpedónicas y morfologías de perfil relativamente contrastantes. Recientes trabajos, y observaciones de los autores, muestran diferencias en textura que motivan este estudio, indicando que la cobertura loésica superficial no es tan homogénea como lo señalan estudios generalizados. Entre los análisis de rutina, previa remoción de carbonatos y materia orgánica, se efectuó la distribución por tamaño de partículas separando por tamizado las subfracciones de arena muy fina (50 μm - 100 μm), fina (100 μm - 250 μm), medía (250 μm - 500 μm), gruesa (500 μm - 1000 μm). Las fracciones limo y arcilla se separaron por el método de la pipeta. Las propiedades de la distribución por tamaño de partículas descritas son: tamaño medio de grano (Mz), selección (So), asimetría (SK) y kurtosis (Kg). El objetivo del trabajo fue definir e interpretar las características texturales y los parámetros sedimentarios de estos depósitos para desarrollar conclusiones acerca del origen de los materiales parentales de estos suelos, su ambiente de depósito y retransporte, y sus mecanismos de selección. Se concluyó que los sedimentos loésicos de la Llanura Subventánica Occidental Bonaerense son sumamente heterogéneos, y están vinculados a un depósito eólico mantiforme, con removilización posterior episódica que emborrea la selección. Se asumió que los materiales parentales son diferentes espacialmente. No se observaron diferencias significativas intrapedónicas y se descartó la existencia de discontinuidades litológicas en la secuencia vertical de horizontes.

Palabras clave: Región pampeana, textura, parámetros sedimentarios heterogeneidad, planos extendidos, interfluvios ondulados.

suroeste de Buenos Aires y aproximadamente 120 km al noreste de Bahía Blanca.

Geomorfológicamente constituye una llanura pedemontana integrada a la unidad denominada "Positivo de Ventania" (10), cuya pendiente general decrece hacia el litoral atlántico y es de 0.5% aproximadamente. Se subdivide en tres secciones: proximal, medio y distal. El sector proximal se presenta como planos extendidos vinculados al relieve serrano; en tanto que el sector medio se halla disectado por una red de cañadones, que constituyen vías de paleodrenaje, no funcionales actualmente, que confieren al paisaje características de relieve ondulado a suavemente ondulado. En el sector distal,

¹ Recibido para publicación el 1 de junio de 1992.

Los autores agradecen la colaboración del señor Rubén Correa, en las tareas de campo, y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), por el subsidio otorgado para la ejecución de este trabajo.

* Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Arg.

domina un relieve de planos extendidos. El material parental de los suelos estudiados está constituido por depósitos loésicos o sus redepósitos por transporte eólico. Esos depósitos reciben los nombres genéricos de Formación Pampeano, Pampeano (5, 7), Pampiano y Pospampiano (17). La fase inorgánica de los sedimentos loésicos presenta una composición mineralógica homogénea, casi monótona en cuanto a especies reconocidas.

No se encontraron diferencias cualitativas en los minerales identificados en sentido horizontal con la excepción de variaciones porcentuales tanto intra- como interpedónicas (1, 3, 4, 12, 13, 14, 16). La asociación mineralógica del loess de la región pampeana difiere básicamente de las de América del Norte y Europa en el contenido de vidrio volcánico y fuerte compactación causada por el carbonato de calcio.

Trabajos previos sobre sedimentos loésicos argentinos indican similitud en su textura con el loess europeo y norteamericano, con una granulometría de limo, dominante sobre arenas y arcillas (8, 9, 15). También Tricart (17) opinó que presentaba predominio de la fracción de limo, aunque no lo consideró un loess típico, sino que era material eólico vinculado a lluvias de cenizas volcánicas al que denominó "eolocinerita". No obstante, trabajos más recientes (2, 11, 19) y las propias observaciones muestran diferencias texturales que indican que los sedimentos loésicos y sus redepósitos no son tan homogéneos como lo señalan estudios generalizados. Se determinó la heterogeneidad en las texturas, las morfologías de perfil relativamente contrastantes y las variaciones en el contenido de carbonato de calcio.

El objetivo de este trabajo fue definir e interpretar las características texturales de esos sedimentos y los parámetros estadísticos, derivados de la distribución por tamaño de partículas, con el propósito de desarrollar conclusiones acerca del origen de los materiales parentales de estos suelos, su ambiente de depósito y retransporte, y los mecanismos de selección de partículas.

MATERIALES Y METODOS

Se seleccionaron cinco perfiles de suelos de morfologías y texturas relativamente contrastantes, que conforman una transecta con orientación noreste-sureste de unos 120 km, en la cual se registró un decreci-

miento de los valores de precipitación y particularidades en el material parental. Se describió cada perfil y se le asignó un nombre local (18). Se tomaron muestras perturbadas sobre las que se efectuaron las siguientes determinaciones: distribución por tamaño de las partículas, previa remoción del carbonato con ácido acético al 10% y de materia orgánica usando agua oxigenada al 30 por ciento. Las subfracciones de arena muy fina (50 μm - 100 μm), fina (100 μm - 250 μm), media (250 μm - 500 μm), gruesa (500 μm - 1000 μm) se seleccionaron con una columna de tamices.

Las subfracciones de limo y arcilla se separaron por el método de la pipeta; el carbonato de calcio por el método del calcímetro; el carbonato orgánico por el de Walkley y Black; el nitrógeno total por el de Kjedahl; el fósforo por el de Olsen; la reacción del suelo y el pH suelo: agua 1:2.5, y el suelo-KCl 1:2.5. Las propiedades de la distribución por tamaño de partículas se describen de acuerdo al tamaño medio de grano: Trask (1930), Otto (1939), Inman (1952), Folk y Ward (1957), McCammon (1962); a la selección: Otto e Inman (1952), Folk y Ward (1957), McCammon (1962); a la asimetría: Inman (1962), Folk y Ward (1957); a la kurtosis: Inman (1952), Folk y Ward (1957), citados en Donker (6). Los valores de media (M_z) y mediana (M_d) se obtuvieron al convertir la escala $e = \log_2(d)$ a milímetros.

RESULTADOS Y DISCUSION

El cálculo de los parámetros sedimentarios se presenta en el Cuadro 1 y las curvas acumulativas correspondientes a los perfiles 1, 2, 3, 4, 5 (Fig. 1). La descripción morfológica, los datos analíticos y la clasificación de los perfiles se presentan en los cuadros 2 y 3.

El perfil 1 - Muzzi se encontró en posiciones de planos extendidos en la porción distal de la llanura pedemontana. El *solum* estaba virtualmente lavado de carbonatos, los cuales se acumularon en un horizonte cálcico (C2ca) por encima de la capa de tosca. La granulometría uniforme del perfil se reflejó en las curvas acumulativas, presentándose homogéneas desde la superficie. El tamaño de grano medio en los horizontes Ap, Cl y C2ca correspondió a la clase arena muy fina, y a la clase limo en el horizonte AC. Los sedimentos estaban de pobre a muy pobremente seleccionados desde el material parental a la superficie del perfil (Ap - So = 2.59; AC - So = 2.59; Cl - So = 3.25; C2ca - So = 2.22). La distribución fue asimétrica positiva y de platicúrtica a muy platicúrtica en todos los horizontes

Cuadro 1. Parámetros sedimentarios.

	Perfil 1-Muzzi				Perfil 2-Napost			Perfil 3-Tres Picos		
	AP	AC	C ₁	C _{2ca}	AP	AC	C ₁	AP	AC	C ₁
Trask (1930) 050	0.101	0.082	0.101	0.101	0.133	0.126	0.108	0.435	0.406	0.353
Otto e Inman MO	0.060	0.049	0.060	0.050	0.076	0.082	0.066	0.133	0.116	0.088
Folk y Ward Mz	0.062	0.049	0.060	0.071	0.070	0.095	0.073	0.378	0.181	0.147
Mc Cammom Mz	0.062	0.059	0.065	0.073	0.093	0.098	0.073	0.230	0.215	0.189
So	2.59	2.59	3.25	2.22	2.22	2.22	2.25	1.92	2.66	2.51
Otto e Inman	2.60	2.60	2.85	2.45	2.12	2.13	2.25	2.80	2.35	3.00
Desviación estándar inclusiva	2.37	2.37	2.35	2.28	2.25	2.22	2.27	2.52	2.29	2.68
Mc Cammon	2.46	2.35	2.29	2.42	2.07	2.29	2.50	2.33	2.51	2.59
O	0.29	0.26	0.23	0.26	0.34	0.36	0.33	0.60	1.00	0.63
2ND O	0.27	0.21	0.21	0.28	0.48	0.40	0.51	0.78	0.91	0.76
Folk y Ward	0.14	0.21	0.12	0.14	0.31	0.18	0.16	0.60	0.80	0.66
Ski										
Inman (1952) O	0.43	0.35	0.36	0.45	0.61	0.65	0.61	0.28	0.51	0.39
Folk y Ward (1957) (kg)	0.81	0.75	0.78	0.81	1.00	0.99	1.18	1.13	0.66	0.72

	AP	Perfil 4-Tomquist			AP	Perfil 5-Sierra Ventana		
		B _{2t}	B ₃	C		AC	C ₁	C ₁
Trask (1930) 050	0.082	0.033	0.047	0.031	0.125	0.007	0.125	0.203
Otto e Inman MO	0.080	0.056	0.060	0.037	0.066	0.052	0.094	0.134
Folk y Ward Mz	0.080	0.045	0.055	0.034	0.087	0.057	0.102	0.153
Mc Cammom Mz	0.069	0.036	0.053	0.036	0.085	0.062	0.100	0.158
So	3.03	3.70	2.66	3.40	2.22	2.22	2.11	1.25
Otto e Inman	2.80	2.75	2.75	2.85	2.00	2.15	1.53	1.35
Desvío estándar inclusivo	2.55	2.52	2.55	2.62	1.84	1.96	1.53	1.51
Mc Cammon	2.48	2.46	2.50	2.59	1.81	1.92	1.52	1.55
O	0.03	-0.27	-0.14	-0.08	0.45	0.16	0.26	0.48
2ND O	0.03	-0.27	-0.14	-0.33	0.60	0.34	0.56	0.70
Folk y Ward Ski	0.03	-0.22	-0.12	-0.16	0.36	0.20	0.29	0.38
Inman (1952) O	0.33	0.26	0.41	0.42	0.40	0.41	1.56	1.03
Folk y Ward (1957) (kg)	0.77	0.66	0.86	0.69	0.57	0.83	1.14	2.25

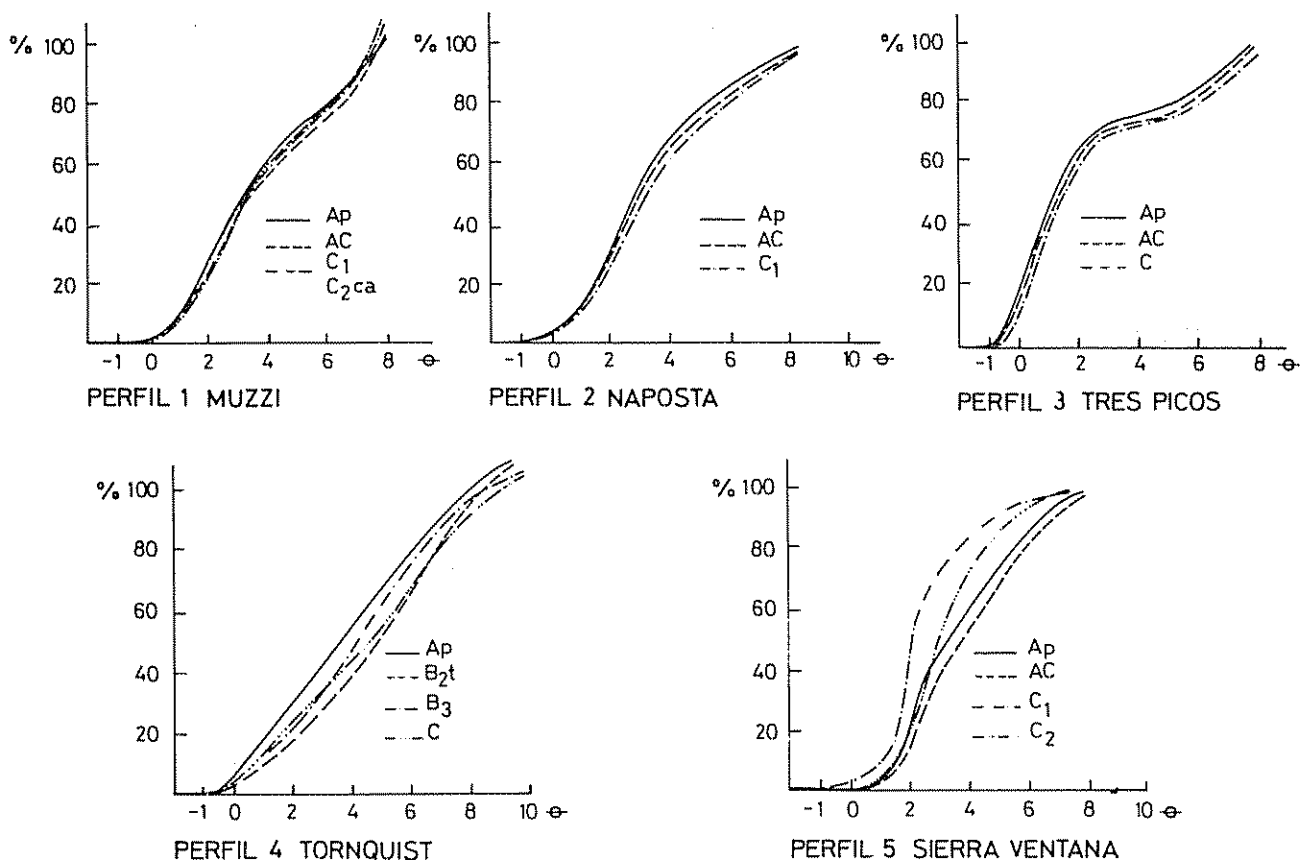


Fig. 1. Curvas acumulativas.

considerados. Dada la uniformidad de las curvas acumulativas y de sus parámetros sedimentarios se descartó la discontinuidad litológica intrapedónica, excepto aquella observada en el campo que determinó la paleosuperficie de contacto entre la capa de tosca (II C3cam) y el material parental de este suelo.

El perfil 2-Napostá ocupa posiciones de loma media en el paisaje ondulado del sector medio de la llanura. Es un suelo totalmente calcáreo, muy poco estructurado, suelto, con comunes concreciones calcáreas sobre una superficie pulverizada por las labranzas. Sus curvas acumulativas fueron bastante homogéneas, aunque difirieron en su distribución en tamaño de las partículas del perfil 1, situado en una posición más estable del sector distal. Este perfil presentó una textura franca cercana a la franco-arenosa con predominio del tamaño arena muy fina ($Mz = 0.133$ mm en el horizonte Ap ligeramente decreciente hasta $Mz = 0.108$ mm en el horizonte C). La selección de partículas fue de pobre a

muy pobre y las curvas de frecuencia tuvieron una distribución asimétrica positiva en todos los horizontes. Al comparar los parámetros sedimentarios, la única diferencia destacable fue el contraste en la kurtosis entre el material originario (leptocúrtica) y los horizontes suprayacentes (mesocúrtica).

Separado unos pocos kilómetros del anterior, el Perfil 3- Tres Picos, en un paisaje similar de planos ondulados del sector medio del piedemonte, presentó, a diferencia de los anteriores, una textura con importantes cantidades de arena media. Los horizontes estaban constituidos por sedimentos muy pobremente seleccionados distribuidos en curvas asimétricas positivas. En la base del perfil, el horizonte C, considerado como material parental de estos suelos, y el horizonte AC suprayacente muestran curvas muy chatas del tipo muy platocúrticas debido a la dispersión del sedimento, contrastando con el horizonte A1 que presentó una curva leptocúrtica.

Cuadro 2. Características morfológicas y granulométricas de los perfiles estudiados.

Horizonte	Profundidad	Color	Estructura	Arcilla < 0.002	Distribución de tamaño de partículas (mm)					
					Limo 0.05 - 0.002	AMF 0.1 - 0.05	AF 0.25 - 0.1	AM 0.5 - 0.25	AG 1.0 - 0.5	AMG 2.0 - 1.0
Perfil 1 - MUZZI - Haplustol petrocálcico, térmico, franco fino.										
Ap	0-10	10YR 3/3	bsa,m,m	29.76	32.67	19.86	13.23	3.92	0.53	-
AC	10-28	10YR 3/2	bsa,m,m	34.94	28.15	22.59	10.98	3.03	0.21	0.1
C1	28-39	10YR 3/4	bsa,f,d	32.18	31.82	20.50	11.97	3.22	0.21	0.1
C2ca	39-69	10YR 7/3	bsa,f,m	30.40	37.75	18.01	9.12	3.51	0.94	0.23
IIC3cam										
Perfil 2 - NAPOSTA - Calcicustol petrocálcico, térmico, franco grueso.										
Ap	0-13	10YR 3/3	gs	17.27	33.30	33.40	9.57	5.93	0.31	0.21
AC	13-37	10YR 3/3	bsa,f,d	16.75	33.08	33.82	10.03	6.09	0.23	-
C1	37-53	10YR 3/4	bsa,f,d	19.33	33.03	32.34	9.55	5.52	0.23	-
IIC2cam										
Perfil 3 - TRES PICOS - Haplustol petrocálcico, térmico franco fino.										
A1	0-27	10YR 3/1	bsa,m,m	19.44	6.77	16.78	23.40	33.16	0.3	0.1
AC	27-47	10YR 3/2	bsa,f,d	21.41	6.73	17.50	22.72	31.22	0.3	0.1
C1	7-113	10YR 4/4	bsa,m,d	22.75	7.29	18.79	23.29	27.68	0.2	-
IIC2cam										
Perfil 4 - TORNQUIST - Argiudol petrocálcico, térmico, franco fino.										
A1	0-14	10YR 3/2	bsa,m,m	28.42	37.31	9.82	12.02	11.81	0.52	0.10
B2t	14-32	10YR 3/1	bsa,f,f	44.89	32.33	8.62	7.66	6.28	0.11	0.11
B3	32-44	10YR 3/3	bsa,f,f	32.88	40.53	9.11	8.90	8.06	0.31	0.21
C1	44-56	10YR 4/3	bsa,m,m	40.27	32.68	8.91	9.64	8.19	0.31	-
IIC2cam										
Perfil 5 - SIERRA VENTANA - Hapludol típico, térmico, franco fino.										
A1	0-19	10YR 3/3	bsa,f,d	25.93	34.76	33.04	4.61	1.10	0.44	0.11
AC	19-45	10YR 3/3	bsa,f,m	34.24	40.13	21.11	4.20	0.21	0.10	-
C1	45-77	10YR 3/4	bsa,g,m	14.63	36.18	39.20	8.58	1.41	-	-
C2	7-1650+	10YR 4/4	bsa,g,d	7.57	29.19	50.05	7.63	2.58	1.40	0.86

Estructura: tipo, bsa: bloques subangulares, gs: grano simple; clase, g: grueso, m: medio, f: fino; grado, f: fuerte, m: moderado, d: débil.

Este perfil constituye un caso especial por el aumento relativo del tamaño arena media. Esta característica fue observada en los controles de campo y constituyó una particularidad en la zona de estudio, ya que esta subclase de arena no es tan frecuente. Las características texturales de estos perfiles fueron determinadas por su posición en el sector medio de la llanura periserrana en un paisaje de interfluvios ondulados. Las pendientes de estos valles actuaron como superficies inestables sujetas a fuga y aportes de materiales provocando desequilibrios en el balance entre morfogénesis y pedogénesis, que contribuyeron a acentuar las diferencias granulométricas de estos suelos.

El Perfil 4. Tornquist ocupó posiciones de planos extendidos en el sector proximal a unos 3 km del valle del río Sauce Chico, que limita por el noroeste con el

área de estudio. Este perfil fue el más evolucionado de toda la transecta, ya que mostró mayor diferencia morfológica pues debajo de su epipedón mólico desarrolló un horizonte argílico. Presentó la textura más fina de todos los perfiles estudiados, con un 44% de arcilla en el horizonte argílico (B2t) y una ganancia neta por iluviación de 16% de arcilla con respecto del horizonte A1 suprayacente. Un rasgo destacable fue la presencia de clastos de cuarzo de tamaño variable, con un promedio de 1.5 cm y más de diámetro, distribuidos en la matriz del suelo especialmente en los primeros 30 cm de profundidad y también de superficie.

El estudio de los parámetros sedimentarios indicó que el tamaño de grano medio del horizonte Ap ($M_z = 0.080$ mm) decrece en todos los horizontes subsuperficiales. Tanto el horizonte B2t ($M_z = 0.045$ mm) como

Cuadro 3. Características químicas de los perfiles estudiados.

Horizonte	pH	1:2.5	CO	NT	P	CaCo3	Complejo de cambio				
	H ₂ O	KCl	(%)	(%)	mg kg ⁻¹	(%)	CIC	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺ cmol kg ⁻¹	Na ⁺	K ⁺
Perfil 1 - MUZZI - Haplustol petrocálcico, térmico, franco fino.											
Ap	6.3	5.1	1.67	0.161	26.6	0.6	18.7	16.7	3.6	0.1	4.1
AC	6.7	5.7	1.00	0.107	4.4	0.8	20.8	20.7	4.4	0.2	3.6
C1	7.7	6.2	0.67	0.083	5.3	0.8	21.6	24.5	5.1	0.3	2.6
C2ca	8.5	7.2	0.40	0.054	0.9	32.6	15.0	35.4	8.4	0.4	0.8
IIC2cam											
Perfil 2 - NAPOSTA - Calcistol petrocálcico, térmico, franco grueso.											
Ap	7.9	7.0	1.96	0.230	4.8	1.9	15.5	35.1	1.3	0.1	2.2
AC	8.1	7.1	1.61	0.177	2.0	4.4	14.5	33.0	1.3	0.2	1.7
C1	8.2	7.2	1.00	0.104	1.1	9.4	11.5	32.7	1.7	0.3	0.9
IIC2cam											
Perfil 3 - TRES PICOS - Haplustol petrocálcico, térmico, franco fino.											
A1	8.2	7.0	0.83	0.077	2.0	0.8	10.1	17.9	1.9	0.1	0.7
AC	8.2	6.9	0.55	0.062	2.0	1.0	10.4	15.2	2.8	0.2	0.7
C1	8.2	6.8	0.30	0.43	1.9	0.7	12.2	14.2	3.2	0.3	0.6
IIC2cam											
Perfil 4 - TORNQUIST - Argiudol petrocálcico, térmico, franco fino.											
A1	6.2	5.3	2.16	0.201	27.9	0.4	15.5	15.9	2.9	0.1	2.5
B2t	6.7	5.3	1.38	0.115	4.4	0.4	21.1	19.7	3.8	0.1	1.9
B3	7.2	5.5	0.78	0.081	7.3	0.4	24.2	20.0	4.0	0.2	1.6
C1	7.6	5.8	0.55	0.070	17.3	0.5	25.3	20.8	4.8	0.2	1.6
IIC2cam											
Perfil 5 - SIERRA VENTANA - Haplustol típico, térmico, franco fino.											
A1	6.3	5.3	2.30	0.207	15.1	0.5	13.8	12.7	2.4	0.1	2.6
AC	6.5	5.3	1.80	0.100	4.6	0.5	13.2	13.0	2.3	0.1	1.9
C1	7.0	6.2	0.34	0.043	13.7	0.4	14.1	12.8	3.3	0.1	1.6

el horizonte C ($M_z = 0.034$ mm) presentaron un tamaño de grano medio que corresponde a la clase de limo. Las características de granulometría fina se atribuyen parcialmente a la herencia del material parental y al proceso de iluviación de arcillas, que determina la génesis del horizonte argílico. Las curvas de distribución granulométrica, tanto en el horizonte superficial como de los horizontes B2t, B3 y C, fueron muy platycúrticas alejándose de la distribución normal.

Además, la selección fue de pobre a muy pobre en todos los horizontes. Destacó el decrecimiento del tamaño medio de las partículas en todos los horizontes subsuperficiales con respecto al A1, y el cambio de una simetría positiva ($SKI = 0.03$) en el tope del perfil a una asimetría negativa, tanto en el horizonte iluvial B2t y el B3, como en el C (Cuadro 1), debido a la acumulación de partículas coloidales en el horizonte B2t y a la mayor disponibilidad de partículas arcillosas en el material

parental que determinaron el corrimiento de la curva de frecuencia hacia la izquierda del máximo central.

El Perfil 5- Sierra Ventana ocupó posiciones de lomas interserranas con una pendiente local del cuatro por ciento. Es el único de los suelos estudiados que no presentó capa de tosca u horizonte petrocálcico en la base del perfil. Granulométricamente fue uniforme, de textura franca, y presentó, distribuidos a través de toda la masa del perfil, clastos de composición similar a la de las rocas de las formaciones aflorantes en el Sistema de Ventania, por ejemplo areniscas, esquistos y cuarcitas. Este perfil mantuvo mayor heterogeneidad en sus curvas acumulativas. Los valores de tamaño de grano promedio crecen levemente hacia la base del perfil y encuadran en la clase arena muy fina en todos los horizontes. Hacia abajo, el horizonte C fue tan pobremente seleccionado como los horizontes suprayacentes y los materiales parentales de los demás suelos estudiados. En

este perfil, la mayor dispersión de tamaños se observó al tope del suelo y en el horizonte AC donde se presentaron curvas muy platicúrticas, en tanto hacia la base del perfil las curvas acumulativas fueron leptocúrticas.

Durante el relevamiento de campo, además de las diferencias granulométricas estudiadas en estos sedimentos eólicos, se observó variabilidad en otras propiedades que contribuyeron, aún más, a destacar las diferencias entre los suelos y la heterogeneidad de la cobertura loésica. El contenido de carbonato de calcio fue irregular en su tendencia a lo largo de la transecta, ya que se encontró un suelo calcáreo desde la superficie (Perfil 2-Napostá), dos perfiles lavados (Perfil 3- Tres Picos, Perfil 4- Tornquist) y otro que presentó el *solum* virtualmente lavado con acumulación secundaria en un horizonte cálcico (Perfil 1- Muzzi). Los suelos estudiados difieren relativamente en su secuencia de horizontes, aunque como rasgo morfológico común presentaron un epipedón oscuro y espeso que permitió clasificarlos en el orden Molisol (Cuadro 2).

CONCLUSIONES

La diversidad de las propiedades de textura estudiadas permitieron descartar la sedimentación loésica uniforme en tiempo y espacio. La investigación realizada permitió concluir que:

- Los sedimentos loésicos de la Llanura Subventánica Occidental Bonaerense son de textura heterogénea y se vinculan a un transporte eólico y a una sedimentación mantiforme, con posterior removilización episódica de partículas sedimentarias que empobrece la selección de los sedimentos por lo que califican como "pobre a muy pobre" en todos los horizontes estudiados.
- Estos sedimentos loésicos, constituyentes de los materiales originarios de los suelos y sus redepósitos, difieren de los europeos y norteamericanos en una importante proporción de arena, especialmente arena muy fina. Particularmente el Perfil 3- Tres Picos presentó un tamaño medio en la subclase arena media, que no es frecuente en el área de estudio.
- La mayor variabilidad se observó en la distribución por tamaño de partículas interpedónicas, tanto en el tamaño de grano medio (Mz), como en la asimetría (SKI) y kurtosis (Kg); se asumió que los materiales parentales eran diferentes espacialmente aunque homogéneos en la secuencia vertical de los distintos perfiles estudiados. La asimetría fue positiva en todos los horizontes, excepto en los horizontes B2t, B3, C (Perfil 4- Tornquist), en virtud del mayor contenido de arcilla del material original y de la intensificación de la iluviación de arcillas en régimen de humedad ústico transicional al údico.
- No se encontraron diferencias significativas entre las curvas acumulativas y los parámetros sedimentarios intrapedones, por lo que se descartó la presencia de discontinuidades litológicas menores dentro de la secuencia de horizontes, con excepción de la observada en el campo, determinada por la paleosuperficie constituida por la capa de tosca.
- La homogeneidad en las curvas acumulativas y parámetros sedimentarios en la secuencia vertical de horizontes en los Perfiles 1 y 4, estaría relacionada con la estabilidad del paisaje en los extremos de la transecta y, en consecuencia, vinculado a menores complicaciones resultantes de procesos morfogenéticos.
- Los rasgos relativamente más vigorosos de la topografía en el sector medio y su consecuente inestabilidad pedogenética asociada, contribuyen localmente al aporte y removilización de partículas sedimentarias, y desmejoran la selección de los sedimentos que determinan contrastes en la kurtosis de las curvas entre horizontes superficiales y subsuperficiales.
- Los fragmentos líticos que complican el sedimento eólico, determinados en el Perfil 5- Sierra Ventana, se consideraron de naturaleza coluvial subordinados al proceso de depósito eólico, con origen en los contrafuertes de Sierra de la Ventana. Subsisten dudas acerca del origen de los clastos de cuarzo del Perfil 4- Tornquist, ya que si bien los caracteres externos y los parámetros sedimentarios del suelo indican un origen eólico, su ubicación en las proximidades de los contrafuertes serranos no permitió descartar un aporte coluvial. Además, como el perfil está ubicado en las proximidades de un valle aluvial funcional, tampoco debió rechazarse la participación de algún desborde fluvial, aunque el perfil no presentó ninguna de las características de los suelos aluviales, como estratificaciones o decrecimiento irregular de la materia orgánica.

LITERATURA CITADA

1. BERTOLDI DE POMAR, H. 1969. Notas preliminares sobre la distribución de los minerales edafógenos en la Provincia de Santa Fe. In Reunión Argentina Ciencia del Suelo (5., Santa Fe). Actas. p. 716-726.
2. BIDART, S. 1990. Caracterización textural de los sedimentos eólicos en el área de Sierra de la Ventana, Provincia de Buenos Aires, Argentina. In Simposio Internacional de Loess (Mar del Plata, Arg.). Resúmenes Expandidos. p. 43-48.
3. BLANCO, M. del C. 1986. Micromorphological and mineralogical study of some soils of the Humid Pampa. Thesis M. Sc. Bélgica, State University of Ghent.
4. DARWIN, C.H. 1846. Geological observations in South America. London.
5. D'ORBIGNY, A. 1942. Voyage dans l'Amérique Meridionale. III. Geologie. Paris.
6. CAMLION, C. 1988. Aportes mineralógicos a la taxonomía y génesis de suelos. In Segundas Jornadas de Suelos de la Región Pampeana. Actas. La Plata, Argentina. p. 15-35.
7. DONKER, N.A. 1973. A selection of procedures for soil analysis and testing. Enschede, The Netherlands, International Institute of Aerial Survey and Earth Science.
8. FIDALGO, F.; DE FRANCESCO, F.; PASCUAL, R. 1975. Geología superficial de la Llanura Bonaerense. In Congreso Geológico Argentino. Relatorio VI. Bahía Blanca.
9. FRENGUELLI, J. 1925. Loess y limos pampeanos. Universidad Nacional de La Plata. Serie Técnica y Didáctica no. 7. p. 1-88.
10. GONZALEZ URIARTE, M. 1984. Características geomorfológicas de la porción continental que rodea a la Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires. In Congreso Geológico Argentino (9., Bariloche) Actas III. p. 557-576.
11. GONZALEZ URIARTE, M.; NAVARRO, E.; ALDACOUR, H. 1990. Formaciones loésicas superficiales en el sur bonaerense. In Simposio Internacional de Loess. Resúmenes Expandidos. Marcelo Zárate (Ed.). Mar del Plata, Arg.
12. MORRAS, H. 1985. Estado actual de la mineralogía y micropedología de suelos de la Región Pampeana Norte, con referencia particular a la Provincia de Santa Fe. In Jornadas Regionales de Suelos de la Región Pampeana Norte (1.) Actas. INTA. Publicación Miscelánea no. 30.
13. SCOPPA, C. 1974. The pedogenesis of a sequence of Mollisols in the Undulating Pampa, República Argentina. Ph.D Thesis. Ghent, Belgium.
14. SCOPPA, C. 1976. La mineralogía de los suelos de la llanura pampeana en la interpretación de su génesis y distribución. In Reunión Argentina Ciencia del Suelo (8.) Actas. IDIA. Suplemento no. 33. p. 659-673.
15. TERUGGI, M. 1957. The nature and origin of Argentinian loess. Journal of Sedimentary Petrology 27:3.
16. TERUGGI, M.; IMBELLONE, P. 1983. Perfiles de estabilidad mineral en suelos desarrollados sobre loess de la Región Pampeana Septentrional. Ciencia del Suelo 1(1):65-74.
17. TRICART, G. 1973. Geomorfología de la Pampa Deprimida: Plan Mapa de Suelos de la Región Pampeana. Colección Científica INTA.
18. USDA (UNITED STATES DEVELOPMENT AGENCY). 1975. Soil taxonomy: A basic system of classification for making and interpreting soil surveys.
19. ZARATE, M.; BLASI, A. 1988. Depósitos loésicos el Pleistoceno tardío-Holoceno del flanco sudoccidental del sistema de Tandilia. In Simposio Internacional sobre el Holoceno en América del Sur. Resúmenes Expandidos.

Levantamento do Subbosque de um Reflorestamento Monoespecífico de *Pinus elliottii* em Relação as Síndromes de Dispersão¹

J. A. Lombardi*, J. C. Motta Junior**

ABSTRACT

A floristic survey of species occurring in the *Pinus elliottii* Engelm. woods was made at the Universidade Federal de São Carlos, São Paulo State, Brazil. Twenty 5 m² parcels were located in the woods, 10 on the margin and 10 inside a reforestation zone. All phanerogamic plants in the parcels, save Poaceae, were collected and identified to at least the family level. A higher mean number of species (11.9) and of individuals (21.2) per parcel was found at the margin of the woods whereas the inside plots showed a mean number of species of 2.5 and a mean number of individuals of 9.6, with P0.01 in both cases. A total of 67 species distributed in 36 families were found including 55.2% zoochoric species, 23.9% anemochoric species, 14.9% barochoric species, and 6.0% autochoric species.

Key words: Reforestation, dispersion syndromes.

RESUMO

Um levantamento das espécies que ocorrem em um bosque de *Pinus elliottii* Engelm. foi feito no campus da Universidade Federal de São Carlos, Estado de São Paulo, Brasil. Vinte parcelas de 5 m² foram feitas no bosque, sendo 10 na margem e 10 no interior do reflorestamento. Foram coletadas todas as fanerógamas no interior das parcelas, exceto Poaceae, e identificadas pelo menos até a nível de família. A região na margem do bosque apresentou os maiores números médios de espécies (9, 11) e de indivíduos (2, 21) por parcela em relação ao interior do bosque (número médio de espécies = 2.5 e número médio de indivíduos = 9.6); com P0.01 em ambos os casos. Foi encontrado um total de 67 espécies distribuídas em 36 famílias. Deste total foram constatadas 55.2% de espécies zocóricas, 23.9% de anemocóricas, 14.9% de barocóricas e 6.0% de autocóricas.

Palavras chave: Reflorestamento, síndromes de dispersão.

INTRODUÇÃO

No Brasil, principalmente no Estado de São Paulo, o desmatamento tem destruído enormes áreas de mata nativa, em muitas destas áreas o reflorestamento é empregado para suprir a demanda sempre crescente de madeira e polpa para industrialização e fabrico de papel, e exige o cultivo de árvores de rápido crescimento. Este reflorestamento não são feitos com o plantio das espécies que originalmente ocorriam nestes locais, mas sim com espécies exóticas, principalmente espécies dos gêneros *Pinus* e *Eucaliptus*, importados de América Central e de Austrália.

Tem sido demonstrado que a substituição da vegetação nativa por bosques monoespecíficos diminui a diversidade vegetal (3) e animal (3, 7). A recomposição de uma área cultivada por um longo tempo não pode se dar apenas através do banco de sementes do solo, que nesses casos se encontra muito diminuído ou ausente (2); as espécies nativas terão de ser plantadas pelo homem ou as suas sementes deverão chegar ao local carregadas pela ação de fatores de dispersão (vento, água, animais, etc), desde que exista uma área de vegetação original próxima de onde virão estas sementes. A ação dos animais em transportar sementes (zocoria) é particularmente importante na recuperação de áreas degradadas próximas a zonas de vegetação nativa (10).

Mesmo com a presença das árvores dos reflorestamentos constata-se a ocorrência de um difuso sub-bosque, no qual ocorrem principalmente espécies invasoras zocóricas e anemocóricas (4, 5) e onde é possível o cultivo de espécies nativas (9). Este trabalho visou a um levantamento das espécies que conseguem penetrar e se estabelecer em um bosque monoespecífico e correlacionar sua ocorrência com as síndromes de dispersão.

¹ Recebido para publicação em 21 de junho de 1991.

Os autores agradecem ao Prof. Dr. J. Semir, Profa. K. Yamamoto, E. V. Franceschinelli, J. A. Meira Neto, L. C. Bernacci e L. Paganucci de Queiroz, pela ajuda na identificação das espécies, e a Celina Mitiko Yokoro pela revisão do texto.

* Depto. de Morfologia e Sistemática Vegetais, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6109, 13081-970, Campinas-SP, Bra.

** Depto. de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Carlos, Caixa Postal 676, 13565-905, São Carlos-SP, Bra.

MATERIAL E MÉTODOS

A área estudada é um reflorestamento com *P. elliottii* Engelm. de cerca de vinte anos de idade (avaliada pelo porte das árvores), com espaçamento em média de 2.0 m entre as árvores e cerca de 6500 m², situado no campus da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos (21°58,S, 47°53,W, 840 m), Estado de São Paulo,

Brasil. A região segundo Koeppen é sujeita a um clima de transição entre Cwai e Aw1, ou seja entre tropical com verão úmido e inverso seco e clima quente de inverno seco (10). O reflorestamento é cercado por uma área de vegetação alterada de cerrado, por áreas urbanizadas, por uma pequena represa e margeado em toda a extensão por trilhas (Fig. 1).

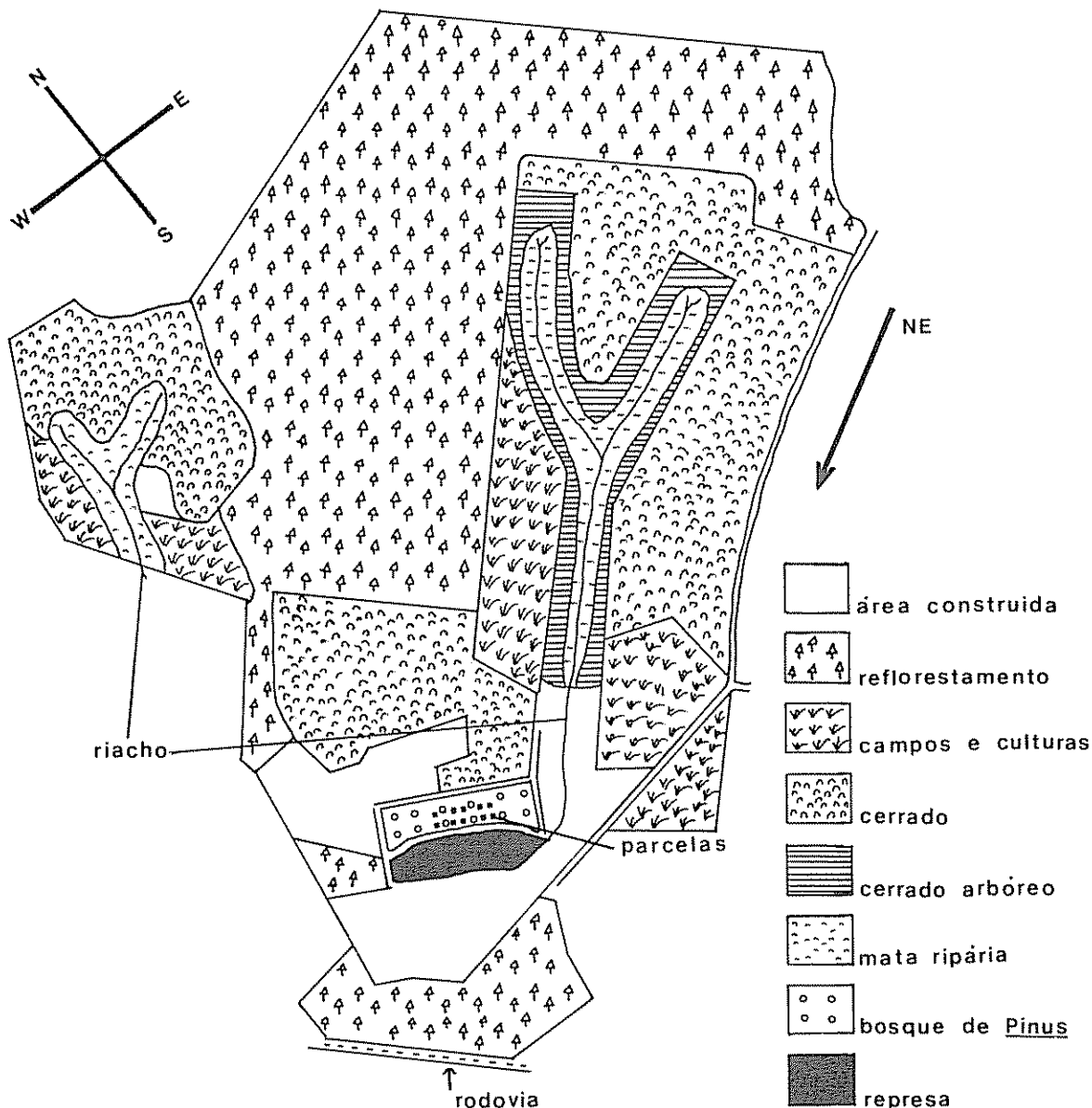


Fig. 1. Campus da Universidade Federal de São Carlos, mostrando os diversos ambientes encontrados, o bosque de *Pinus* onde o estudo foi feito com a localização aproximada das parcelas, e de ventos dominantes vindos de Nordeste (NE). (Simplificado de fotos aéreas datadas de 1988, Esc.:1:26000).

Quadro I. Relação das espécies encontradas no levantamento e as suas síndromes de dispersão.

Espécies	N	P (n)	FA	S
<i>Copaifera lansdorffii</i> Desf. ++	14	I(03), B(08)	55	Z
<i>Rapanea quianensis</i> Aubl. ++	13	I(01), B(07)	40	Z
<i>Aristolochia arcuata</i> Mart. ++	ind.	I(01), B(05)	30	AN
<i>Ageratum conyzoides</i> L. +	70	I(04), B(02)	30	AN
<i>Dichondra repens</i> Forst. +	ind.	B(06)	30	B
<i>Phyllanthus corcovadensis</i> (Muell.) Arg. +	06	I(01), B(04)	30	AU
<i>Campomanesia</i> sp. ++	10	B(05)	25	Z
<i>Cestrum sendirianum</i> Mart. ex Sendt. ++	17	B(04)	20	Z
<i>Jacaranda mimosaefolia</i> D. Don +	05	I(01), B(03)	20	AN
<i>Psychotria carthagenensis</i> Jacq. ++	14	B(04)	20	Z
<i>Pyrostegia venusta</i> (K.-G.) Miers ++	05	I(02), B(02)	20	AN
<i>Aristolochia melastoma</i> Manso. ++	ind.	B(03)	15	AN
<i>Chlorophora</i> sp. +	04	B(03)	15	Z
Myrtaceae sp. 3 ++	04	B(B)	15	Z
<i>Solanum gemellum</i> (Mart.) Sendt. ++	05	I(01), B(02)	15	Z
<i>Spathodea campanulata</i> Beauv. +	07	B(03)	15	AN
<i>Aegiphila</i> sp. ++	04	B(02)	10	Z
<i>Cissampelos glaberrima</i> St. Hill +	ind.	B(02)	10	B
<i>Dioscorea</i> sp. ++	02	I(02)	10	AN
<i>Drynaria cordata</i> Willd. +	ind.	B(02)	10	B
<i>Ipomea</i> sp. 1 +	03	B(02)	10	B
<i>Lantana</i> sp. +	08	B(02)	10	Z
<i>Manettia</i> sp. +	08	I(0), B(01)	10	Z
<i>Miconia stenostachya</i> DC ++	03	B(02)	10	Z
<i>Momordica charantia</i> L. +	02	I(02)	10	Z
Myrtaceae sp. 1 ++	03	I(01), B(01)	10	Z
<i>Ocotea</i> sp. ++	02	B(02)	10	Z
<i>Oxalis</i> sp. +	ind.	B(02)	10	B
<i>Sebastiania marginata</i> Muell. ++	02	B(02)	10	AU
<i>Senna</i> sp. +	02	B(02)	10	B
<i>Vernonia</i> sp. +	03	B(02)	10	AN
<i>Arecastrum romanzoffianum</i> (Cham.) Becc. ++	03	B(01)	05	Z
Asclepiadaceae sp. 1 +	01	B(01)	05	AN
<i>Asclepias curassavica</i> L. +	03	B(01)	05	AN
Asteraceae sp. 1 +	01	B(01)	05	AN
<i>Blainvillea</i> sp. +	01	B(01)	05	AN
<i>Callisthene minor</i> Mart. ++	02	I(01)	05	AN
<i>Citrus</i> sp. +	01	B(01)	05	Z
<i>Cordia corimbosa</i> (L.) G. Don +	01	I(01)	05	Z
<i>Commelina</i> sp. +	ind.	B(01)	05	B
<i>Dalbergia</i> sp. ++	01	B(01)	05	B
<i>Eupatorium</i> sp. +	01	B(01)	05	AN
<i>Erythroxylum cuneifolium</i> (Mart.) Sch. ++	01	B(01)	05	Z
<i>Ipomea</i> sp. 2 +	01	B(01)	05	B
Lauraceae sp. 1 ++	02	I(01)	05	Z
<i>Machaerium</i> sp. ++	02	I(01)	05	B
<i>Mendoncia</i> sp. ++	01	B(01)	05	Z
Myrtaceae sp. 2 ++	01	B(01)	05	Z
Myrtaceae sp. 4 ++	01	B(01)	05	Z
<i>Ocotea gracilis</i> (Meissn.) Mez. ++	01	B(01)	05	Z
<i>Oecoclades maculata</i> Lindl. ++	01	B(01)	05	AN
<i>Passiflora</i> sp. ++	01	I(01)	05	Z
<i>P. alata</i> Dryand. +	02	B(01)	05	Z
<i>P. capsularis</i> L. ++	03	B(01)	05	Z
<i>P. misera</i> HBK ++	01	B(01)	05	Z

Viene de la página anterior

Espécies	N	P (n)	FA	S
<i>Pavonia</i> sp. +	02	I(01)	05	Z
<i>Piper</i> sp. +	08	B(01)	05	Z
<i>P. amalago</i> L. +	02	B(01)	05	Z
<i>Rubus urticaefolius</i> Poir. ++	02	B(01)	05	Z
<i>Sida rhombifolia</i> K. Schum. +	01	B(01)	05	AU
<i>Smilax syringoides</i> Griseb. ++	02	B(01)	05	Z
<i>Solanum ciliatum</i> Lam. +	01	B(01)	05	Z
<i>Stachytarpheta cayanensis</i> Cham. +	01	B(01)	05	Z
<i>Tillandsia stricta</i> Solander ++	01	B(01)	05	AN
<i>Tragia</i> sp. +	03	B(01)	05	AU
<i>Triumfetta semitriloba</i> Jacq. +	03	B(01)	05	Z
<i>Xylopia brasiliensis</i> Spreng. +	01	B(01)	05	Z

N = Número total de indivíduos (ind. = indeterminado).
 P (n) = Parcela (número de parcelas onde a espécie ocorre).
 B = Parcela na borda.
 I = Parcela no interior.

(n) = Número de parcelas onde a espécie ocorre.
 FA = Frequência absoluta.

S = síndrome; AN = anemocoria; AU = autocoria; B = barocoria e Z = zoocoria.
 + espécies cultivadas ou invasoras; ++ espécies nativas na região.

Foram feitas 20 parcelas de 5 m², dez delas na margem do bosque que fazia a represa (aproximadamente a uma distância de quatro metros de primeira fileira de árvores), e dez no centro do bosque a cerca de 65 m das parcelas feitas na margem. As parcelas marginais recebem naturalmente mais luz solar, e por estarem próximas a represa tem maior disponibilidade de água, já as internas recebem apenas a luz filtrada pela copa das árvores e água de chuva que atravessa as copas. A margem do bosque que fazia a represa foi escolhida por não estar em contato direto com a área de cerrado alterado, e não ser diretamente exposta aos ventos dominantes de Nordeste (Fig. 1), possibilitando uma melhor avaliação da possibilidade de ocorrência de dispersão de sementes através da extensão do reflorestamento.

Todas as fanerógamas (exceto Poaceae) foram coletadas para identificação pelo menos a nível de família. Foram anotados o número de indivíduos ocorrentes de cada espécie em todas as parcelas. A identificação do material coletado foi feita com consultas a chaves de identificação botânica, a botânicos e por comparação com materiais depositados no herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC). Os resultados foram comparados com o emprego do teste U de Mann-Whitney (8). A determinação da provável síndrome de dispersão das espécies foi feita através de consultas a obras de referência botânica e em literatura sobre modos de dispersão (6).

RESULTADOS

A região da margem apresentou os maiores números médios de espécies (9, 11) e de indivíduos (2, 21) por parcela em relação ao interior do bosque (número médio de indivíduos = 9.6 e número médio de espécies = 2.5); sendo P0.01 em ambos os casos.

Foi encontrado um total de 67 espécies distribuídas em 36 famílias (Quadro 1), a maioria dos indivíduos encontrados se encontrava no estágio de plântula. A frequência absoluta (FA) de ocorrência das espécies foi maior em *Copaifera langsdorffii* (55%) e em *Rapanea guianensis* (40%) (Quadro 1). Nas parcelas do interior foi constatada a presença de 18 espécies, sendo consideradas 10 espécies zoocóricas (55.5%), seis espécies anemocóricas (33.3%), uma espécie barocórica (5.5%) e uma autocórica (5.5%), nas parcelas marginais encontraram-se 69 espécies, sendo 32 zoocóricas (46.4%), 24 anemocóricas (34.8%), nove barocóricas (13.0%) e quatro espécies autocóricas (5.8%). No total foram encontradas 67 espécies, 37 (55.2%) espécies zoocóricas, 16 (23.9%) espécies anemocóricas, 10 (14.9%) espécies barocóricas e quatro (6.0%) espécies autocóricas (Quadro 1).

DISCUSSÃO

Verifica-se que os reflorestamentos por espécies de *Pinus* são passíveis de sofrer invasão por espécies da

flora nativa. Esta invasão foi mais intensa na margem, como constatado pela comparação da densidade de espécies nos limites e no centro do reflorestamento. O maior número de espécies encontradas na margem provavelmente é devido a maior exposição da borda aos ventos e por ser mais frequentada por dispersores (pássaros, morcegos) que usam as árvores como pouso.

O fato da maioria dos indivíduos encontrados estarem na fase de plântula comprova a introdução recente das sementes, pois a participação do banco de sementes em cultura desta idade (ca. 20 anos) é muito diminuído (2), a quase ausência de indivíduos adultos é devida à limpeza periódica do bosque por tratores e capina manual, mas em um bosque de *Eucalyptus* onde o subbosque não foi removido por 10 anos Cardel & Silva Jr. (1) encontraram espécies arbóreas adultas. O estabelecimento das plantas no interior provavelmente é dificultado pelo sombreamento, e muitas plântulas encontradas estavam debilitadas ou mortas, poucos indivíduos plenamente desenvolvidos foram encontrados.

Os resultados ressaltam a importância da dispersão por animais para a colonização de ambientes alterados, já que as duas espécies de maior ocorrência (*C. langsdorffii* e *R. guianensis*) são espécies de dispersão zoocórica e ocorrentes na região, indivíduos adultos destas duas espécies são encontrados a cerca de um quilômetro da área estudada.

CONCLUSÕES

Os reflorestamentos monoespecíficos de *P. elliotii* são passíveis de serem invadidos por espécies da flora nativa, quando estabelecidos a longo tempo as sementes chegarão principalmente carregadas por agentes dispersores, desde que exista uma área próxima que seja fonte dessas sementes.

A importância dos dispersores animais é constatada, por serem de dispersão zoocórica as duas espécies de maior ocorrência encontradas neste estudo e comuns naturalmente em áreas próximas, além de 55.2% do total das espécies encontradas apresentarem síndromes de dispersão zoocórica.

LITERATURA CITADA

1. CARDEL, F.S.; SILVA JUNIOR, M.C. 1989. Distribuição dos diâmetros da regeneração de Mata Atlântica, estabelecida sob plantio de *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden, no Município de Dionísio-MG. In Congresso Nacional de Botânica (40, 1989, Cuiabá, Bra.). Resumo. Engenheiro (Ed.). Cuiabá, Bra., UFMT. v. 2, 328 p.
2. KAGEYAMA, P.Y.; CASTRO, C.F.A.; CARPANEZZI, A.A. 1989. Implantação de matas ciliares: Estratégias para auxiliar a sucessão secundária. In Simpósio sobre Mata Ciliar (1., 1989, São Paulo, Bra.). Anais. L.M. Barbosa (Ed.). Campinas, Bra., Fundação Cargill. 335 p.
3. MUÑOZ, A.; MURUA, R. 1989. Efectos de la reforestación con *Pinus radiata* sobre la diversidad y abundancia de los micro-mamíferos en un agroecosistema de Chile Central. Turrialba (C.R.) 39(2):143-150.
4. PICCOLO, A.L.G.; SILVA E.M.P.; LELIS, G.J.; RAMOS, M.R.; KACHAN, M.S. 1972. Plantas invadindo plantações de *Eucalyptus robusta*. Revista de Agricultura (Bra.) 47(2):81-85.
5. PICCOLO, A.L.G.; VIDAL, R.; CATTAL, I.A.; LORDELLO, M.H.; HEBLING, R.M.D.; BALDONI, M.L.; BONINI, S.A. 1972. Plantas tolerantes ao sombreamento por *Eucalyptus alba*. Revista de Agricultura (Bra.) 47(2):87-90.
6. PIJL, L. 1972. Principles of dispersal in higher plants. 2 ed. New York, Springer-Verlag. 162 p.
7. SCHOEREDER, J.H.; MEGURO, M.; DELITTI, W.B.C. 1990. Efeito da substituição da cobertura vegetal natural na fauna de artrópodos de serapilheira. Ciência e Cultura (Bra.) 42(1):76-78.
8. SIEGEL, S. 1975. Estatística não-paramétrica para as ciências do comportamento. São Paulo, McGraw-Hill. 350 p.
9. TOLEDO FILHO, D.V.; PARENTE, P.R. 1982. Essências indígenas sombreadas. Silvicultura em São Paulo (Bra.) 16(A):948-958.
10. TOLENTINO, M. 1967. Estudo crítico sobre o clima da região de São Carlos, São Carlos, Concurso de Monografias Municipais. 78 p.
11. VASCONCELLOS, L.A.; MOTTA JUNIOR, J.C. 1989. A importância das síndromes de dispersão para a reconstrução de matas ciliares. In Simpósio sobre Mata Ciliar (1., 1989, São Paulo, Bra.). Anais. L.M. Barbosa (Ed.). Campinas, Bra., Fundação Cargill. 335 p.

Número de Plantas por Mata en la Fenología, Crecimiento y Rendimiento de *Zea mays* L. var. Olotón¹

A. Márquez-Gómez*, L. García-Barrios*, J. Kohashi-Shibata**

ABSTRACT

Zea mays L. var. Olotón, the major crop in the highlands of Chiapas, Mex., is produced by peasants in poor soil fertility conditions. Attempts are being made to develop this agricultural system, among other means by increasing soil fertility and modifying plant density and spatial arrangement. Local peasants commonly sow plants in hills (3.3 mature plants on average) one in apart. In this study, Olotón maize—a long cycle corn plant with abundant biomass and leaf area—was produced under favorable conditions in order to assess the convenience of increasing the current number of plants per hill as a strategy for attaining optimum plant densities and obtaining higher yields. As the number of plants per hill was successively increased from one to six, leaf area, stalk diameter, plant parts and total plant dry weight, yield components and total grain yield per plant were reduced. Time to silking increased slightly. Plant height was unaffected. Optimum plant number per hill was estimated at 4.6 for grain production and 4.9 for dry matter production.

Key words: *Zea mays* var. Olotón, competition, number of plants per hill, growth, phenology, yield components.

RESUMEN

En Los Altos de Chiapas, Méx., se cultiva el maíz 'Olotón' en condiciones limitantes de fertilidad de suelo. Los campesinos de la región comúnmente lo siembran en matas (3.3 plantas maduras en promedio) separadas por un metro entre ellas. Para este estudio, se cultivó 'Olotón' -variedad criolla de ciclo largo, con abundante producción del área foliar y materia seca- en condiciones favorables de fertilidad. Se evaluó la conveniencia de aumentar el promedio actual de plantas por mata como una estrategia para alcanzar una densidad de población óptima y lograr rendimientos más altos. Con el incremento sucesivo del número de plantas por mata de uno a seis, área foliar, diámetro de tallo, peso seco total de la planta y de cada uno de sus órganos, los componentes del rendimiento y la producción total de grano por planta se redujeron. El período a floración se incrementó ligeramente. El número óptimo de plantas por mata fue estimado en 4.6 y 4.9 para la producción de grano y de materia seca, respectivamente.

Palabras clave: *Zea mays* L. var. Olotón, competencia, número de plantas por mata, crecimiento, fenología, componentes del rendimiento.

INTRODUCCION

El maíz 'Olotón' es una variedad criolla, que se encuentra en su forma más pura en Los Altos de Chiapas (24), donde es ampliamente cultivado por los campesinos tsotsiles (12). Se cultiva en pequeñas parcelas con fuertes limitantes de fertilidad de suelo y precipitación. En estas condiciones, se siembran cuatro granos por mata (cuatro granos por postura) con una separación de un metro entre las matas

(12, 17). El número más frecuente de plantas de maíz desarrolladas por mata en estas parcelas es de 3.3 y el rendimiento promedio del grano es de 1700 kg ha⁻¹ (12).

En un estudio para caracterizar el potencial productivo y la aptitud fisiológica en el rendimiento de 'Olotón', Kohashi y García (16) lo cultivaron en condiciones de competencia mínima (dos plantas por metro cuadrado) en un ambiente favorable y obtuvieron una planta promedio con un ciclo de vida de 210 d, altura de 3.3 m y área foliar de 112 dm² por planta; su producción de materia seca fue de 766 g y de grano, 206 g por planta; pero tanto la eficiencia del rendimiento como su índice de cosecha fueron bajos (1.85 g dm⁻² y 27%, respectivamente).

Estas características anatómicas y fisiológicas influyeron en la habilidad competitiva de las plantas, a su vez afectada por la densidad y distribución espacial

¹ Recibido para publicación el 12 de setiembre de 1991.

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo a la investigación, con el otorgamiento de una beca para tesis (registro 56395), y a Lorenzo Hernández López, por su ayuda en las actividades de campo.

* Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste, Apartado postal # 63, 29200, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, Méx.

** Centro de Botánica, Colegio de Postgraduados CP 56230, Chapingo, Edo. de México.

del cultivo (21, 23). García y Kohashi (13) investigaron, en condiciones experimentales, la densidad óptima y el rendimiento máximo del maíz 'Olotón' usando el arreglo más favorable agronómicamente (4, 5, 6, 8, 16); sembraron las plantas en cepas individuales, redujeron la distancia entre plantas y mantuvieron a 80 cm la distancia entre surcos. Ellos encontraron que la relación del área foliar aumentó y la eficiencia del rendimiento y el índice de cosecha se redujeron. La producción máxima de materia seca fue de 3000 g m⁻² a una densidad de población de ocho plantas por metro cuadrado y el rendimiento máximo de grano fue de 700 g m⁻² a una densidad óptima estimada de 5.25 plantas por metro cuadrado.

Esos resultados muestran que con la siembra de 'Olotón' en una condición favorable de cultivo y con una distribución adecuada de las plantas, pueden alcanzarse densidades de población y rendimientos superiores a los reportados para las parcelas campesinas. Pero, los agricultores tsotsiles lo siembran en matas porque así se favorece la asociación con otros cultivos y las labores de labranza, basadas en métodos e instrumentos manuales (12, 17).

En un programa de desarrollo tecnológico para las parcelas campesinas de maíz en Los Altos de Chiapas, al elevar la disponibilidad de agua y nutrientes para el cultivo, ¿sería posible elevar la densidad de siembra aumentando el número de plantas por mata? Este estudio tiene como objetivo determinar los efectos del número de plantas por mata en la fenología, el crecimiento y el rendimiento del maíz 'Olotón', cuando crece en condiciones favorables de cultivo.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en el campo experimental del Centro de Investigaciones Ecológicas del Suroeste (CIES), localizado en la ciudad de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, Méx., a una altitud de 2130 metros sobre el nivel del mar. El subtipo climático de la zona es CW2(w)b (12). La siembra se realizó el día 7 de abril de 1988. El germoplasma utilizado fue *Zea mays* L. var. Olotón. Los tratamientos empleados fueron matas con una planta, tres plantas, cuatro plantas, cinco plantas y seis plantas con una separación de un metro entre surcos y un metro entre matas. El diseño experimental utilizado fue el de bloques al azar con cuatro repeticiones. Cada parcela constó de seis surcos de 10 m de largo y

un metro de ancho. La dosis de fertilización fue de 180-80-50 (N-P-K) aplicada en tres partes: 27 d después de la siembra (dds) se aplicó el 50% de P y de K y el 33% de N; 50 dds el 33% de N y el resto del P y K; y 90 dds el N restante. La humedad del suelo se mantuvo siempre por arriba del 30% de humedad aprovechable. El cultivo se mantuvo libre de plagas y arvenses.

Se eligieron 16 plantas en cada tratamiento (cuatro por repetición) para realizar el seguimiento semanal de la fenología de la planta. Se hicieron tres muestreos destructivos en los estadios de séptima hoja ligulada, anthesis femenina y madurez fisiológica. En cada muestreo se obtuvo al azar una mata con competencia completa por cada repetición; para el tratamiento de una planta por mata se tomaron dos matas por repetición. El número total de plantas disectadas fue de 8 plantas, 12 plantas, 16 plantas, 20 plantas y 24 plantas para los tratamientos con 1 planta, 3 plantas, 4 plantas, 5 plantas y 6 plantas por mata, respectivamente. En los dos primeros muestreos se midieron las siguientes características de la planta: peso seco total, peso seco de cada órgano, altura hasta la base de la última hoja con lígula expuesta, diámetro del tallo en el décimo entrenudo, área foliar y número de hojas, y posición de la primera mazorca.

En el muestreo de madurez fisiológica se midieron, además, los componentes del rendimiento (número de mazorcas por planta, número de hileras de grano de cada mazorca, número de granos por hilera y peso promedio de un grano), longitud y diámetro de mazorca, y porcentaje de llenado de mazorca. Se evaluaron la tasa de exposición de hojas (TEH) y el área foliar activa durante el período reproductivo. Se calcularon los siguientes índices: inicio y duración de cada etapa fenológica (20); índice de cosecha, IC (7); eficiencia del rendimiento, ER (10); relación del área foliar, RAF (14); área específica foliar, AEF (14); índice de área foliar, IAF (22) y se calculó la fórmula de los componentes del rendimiento. Esta fórmula indica que el rendimiento de una planta es el producto de la multiplicación de los componentes del rendimiento de la mazorca superior, más el producto de la multiplicación de los componentes del rendimiento de la mazorca inferior. Los componentes del rendimiento y producción de grano por planta: IC, RAF, AEF fueron sometidos a un análisis de variancia para detectar las diferencias y hacer una comparación múltiple de medias para cada tratamiento.

Se evaluó el efecto del número de plantas por mata en la producción de grano por planta y por metro

cuadrado mediante la estimación de los parámetros A y K del siguiente modelo (3):

$$P_{\text{grano}} = A_{\text{grano}} K_{\text{grano}}^N$$

$$R_{\text{grano}} = N A_{\text{grano}} K_{\text{grano}}^N$$

donde:

A = producción de grano en la planta sin competencia (cuando la densidad es cercana a cero).

K = constante de proporcionalidad. Toma valores entre 0.6 y 1. Cuanto menor es su valor, mayor es el efecto deletéreo del incremento en el número de plantas por mata.

N = número de plantas por metro cuadrado.

R = producción de grano por metro cuadrado.

La estimación de los parámetros A y K se hizo extensiva a la producción de materia seca, área foliar, peso seco y dimensiones de los distintos órganos de la planta (13). Se estimó también el número óptimo de plantas por mata ($N_{\text{opt}} = -1/\ln K$) y el rendimiento máximo de grano:

$$R_{\text{max}} = N_{\text{opt}} \cdot A_{\text{grano}} \cdot K_{\text{grano}}^{N_{\text{opt}}} \quad (13).$$

RESULTADOS

Planta individual sin competencia

La morfología general del maíz 'Olotón', la duración de su ciclo de vida y de cada una de sus fases se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Fenología del maíz 'Olotón' crecido a razón de una planta por metro cuadrado (n = 16).

Carácter	Duración (d)
Ciclo biológico	203
Fase vegetativa inicial	42
Fase vegetativa activa	70
Fase inicial de llenado de grano	21
Fase de llenado activo de grano	70
Período vegetativo	112
Período reproductivo	91
Protandria	0
Días a floración masculina	112
Días a floración femenina	112

En el período vegetativo la planta sin competencia (una planta por metro cuadrado) produjo 373.4 g de materia seca aérea, de los cuales el 48% correspondió al tallo y el 21% a las láminas foliares. Su área foliar fue de 107.9 dm², repartida en 23 láminas foliares; la lámina 14 fue la de mayor superficie. El área foliar de las hojas situadas por arriba del nudo 19 (nudo donde se insertó la primera mazorca) representó el 24.1% del total. En este periodo se perdió el 3.5% del área foliar de la planta por la senescencia de las primeras ocho hojas.

Desde el inicio del periodo reproductivo el área foliar de la planta empezó a decrecer. Hasta los 154 dds (fin del estadio de grano lechoso), la pérdida del área foliar fue escasa (15.6% del total); a partir de ese momento, el área foliar se abatió rápidamente. En el momento de madurez fisiológica, la planta no tenía prácticamente área foliar activa.

En el período reproductivo la planta produjo 336.7 g de materia seca, de los cuales el 52% se destinó al grano (31% en la mazorca superior y 21% en la inferior). El mayor crecimiento de los órganos reproductivos ocurrió entre las fases de grano lechoso y grano masoso. Este crecimiento fue de 1.7 g d⁻¹ y se debió casi por completo al crecimiento del grano.

La producción de materia seca en todo el ciclo fue de 710.1 g por planta y la de grano fue de 182.3 g por planta.

Efecto del número de plantas por mata en la fenología, crecimiento y rendimiento del maíz 'Olotón'

En el Cuadro 2 se indican los valores estimados de los parámetros A y K con los que se analizaron el abatimiento relativo de los valores de cada variable.

Con el aumento en el número de plantas por mata (NPM), se retrasó la tasa de exposición de las hojas liguladas (datos no incluidos) y se abatió el peso seco de todos los órganos de la planta, tanto en el periodo vegetativo (PV) como en el reproductivo (PR).

En el PV, la materia seca producida por planta se redujo a un 41% al aumentar de una a seis plantas por mata, usando el valor de las variables en el tratamiento de una planta por metro cuadrado con un índice de 1.00, para comparar el abatimiento relativo de los valores de las variables de los demás tratamientos. La misma

Cuadro 2. Morfología general de la planta de maíz 'Olotón' crecida a razón de una planta por metro cuadrado (n = 16).

Carácter	Media	ee
Altura a la última lígula (cm)	296	9.5
Diámetro de tallo	3.5	0.1
Número de hojas	23	
Area foliar total (dm ²)	107.9	6.3
Número de mazorcas	2	0.2
Posición de la mazorca superior (número del nudo)	19	0.5
Mazorca superior:		
Longitud (cm)	15.9	1.2
Diámetro (cm)	4.7	0.1
Mazorca inferior:		
Longitud (cm)	13.8	1.5
Diámetro (cm)	4.1	0.2
Peso seco total aéreo (g)	710.1	42
Producción de grano (g)	182.3	25
Índice de cosecha	25	25

relación se usó en lo sucesivo. La variable con mayor abatimiento relativo fue el peso seco de raíz y la menos afectada fue el peso seco de las láminas foliares (Fig. 1).

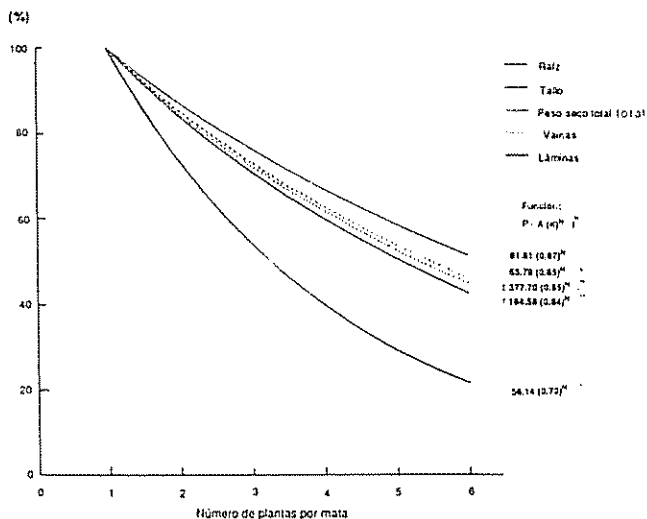


Fig. 1. Caída proporcional del peso seco total y de los órganos vegetativos del maíz 'Olotón' al aumentar el número de plantas por mata (una planta por mata = 100%). Los valores de los parámetros A y K que aparecen al margen derecho de cada variable permiten estimar su valor absoluto como función de la densidad (N).

En el PR, la materia seca producida por planta se redujo a un 40% al aumentar de una a seis el número de plantas por metro cuadrado. La variable con mayor abatimiento relativo fue el peso seco de brácteas, y las menos afectadas, el número de mazorcas por planta y la materia seca aérea (Fig. 2). Los componentes de la

primera mazorca se abatieron en menor medida que los de la segunda. El área foliar que se mantuvo activa por planta fue menor en las plantas que crecieron con mayor competencia (Fig. 3).

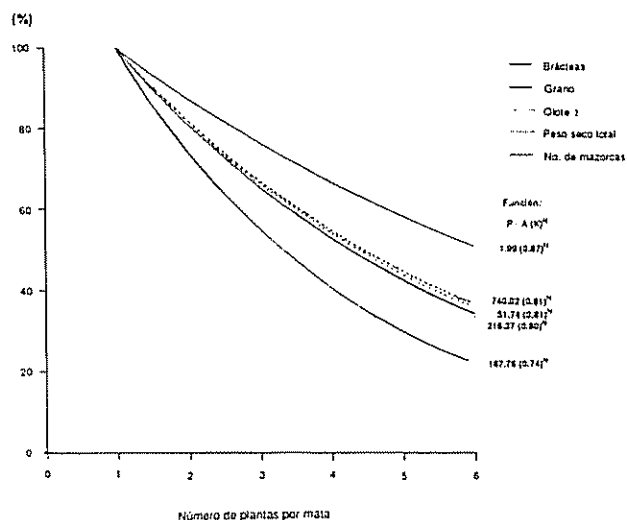


Fig. 2. Caída proporcional del peso seco total y de los órganos reproductivos del maíz 'Olotón' al aumentar el número de plantas por mata (una planta por mata = 100%). Los valores de los parámetros A y K que aparecen al margen derecho de cada variable permiten estimar su valor absoluto como función de la densidad (N).

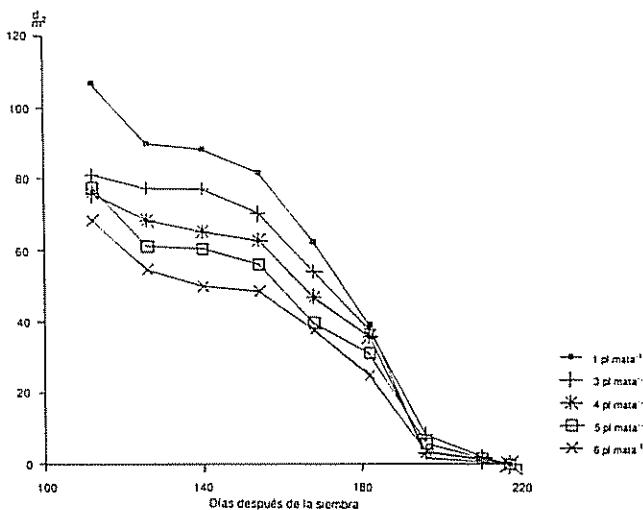


Fig. 3. Área foliar en el periodo reproductivo del maíz 'Olotón' en matas con distinto número de plantas.

Con el aumento del NPM, disminuyeron el AF y el diámetro del tallo, pero no su altura; estas tres variables se sostuvieron en mayor medida que la producción de grano y materia seca por planta (Fig. 4).

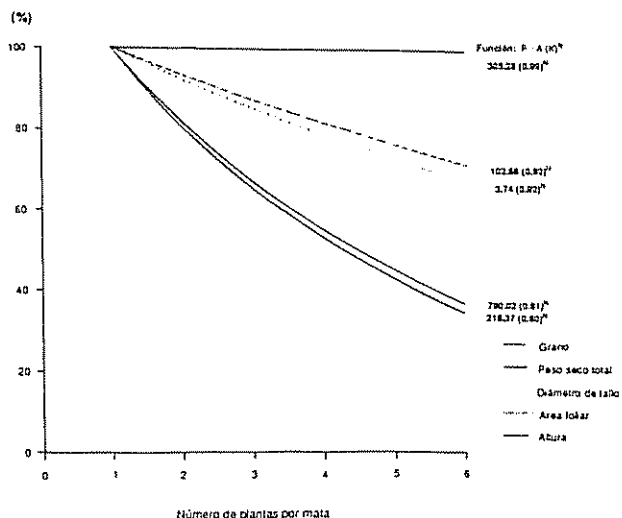


Fig. 4. Caída proporcional del peso seco total y dimensiones de los órganos del maíz 'Olotón' al aumentar el número de plantas por mata (una planta por mata = 100%). Los valores de los parámetros A y K que aparecen al margen derecho de cada variable permiten estimar su valor absoluto como función de la densidad (N).

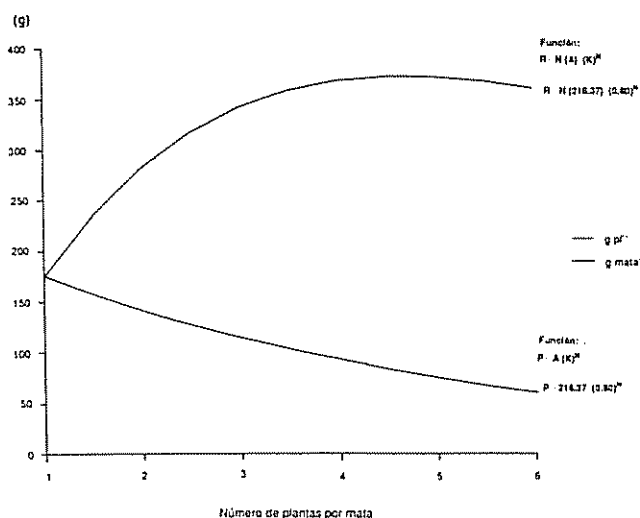


Fig. 5. Producción estimada de grano por planta y mata de 'Olotón' al aumentar el número de plantas por mata. Los valores de los parámetros A y K que aparecen al margen derecho de cada variable permiten estimar su valor absoluto como función de la densidad (N).

El área específica foliar y la relación del área foliar aumentaron con el incremento en el NPM; la ER promedio disminuyó y el IC no se afectó (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto del número de plantas por mata en distintos índices fisiológicos del maíz 'Olotón'.

Características	Número de plantas por mata				
	1	3	4	5	6
Área específica foliar (dm ² g ⁻¹)	1.3	1.5	1.6	1.7	1.9
Razón del área foliar (dm ² g ⁻¹)	0.28	0.35	0.44	0.42	0.47
Eficiencia del rendimiento (g dm ⁻²)	1.6	1.6	1.1	1	1
Índice de cosecha	29	29	30	29	35
	a	a	a	a	a

Letras distintas indican diferencia significativas: P>0.05.

En la Figura 5 se muestra la producción estimada de grano por planta y por mata. Los cambios en la producción de grano por planta estuvieron asociados principalmente a la caída de dos de los componentes del rendimiento: número de mazorcas por planta y número de granos por hilera de cada mazorca (Cuadro 4).

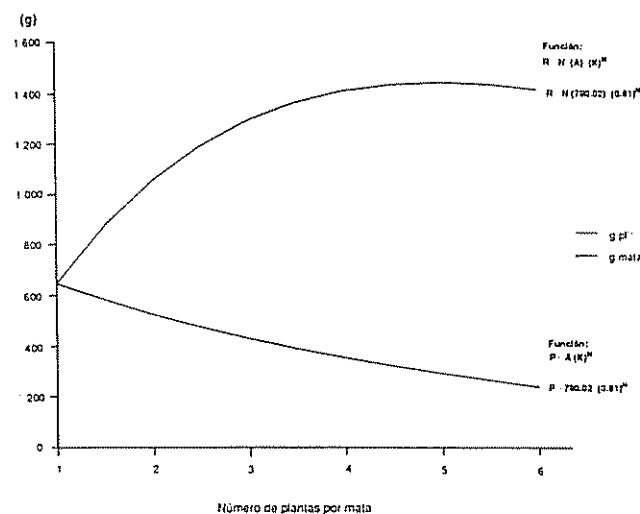


Fig. 6. Producción de materia seca por planta y mata de 'Olotón' al aumentar el número de plantas por mata. Los valores de los parámetros A y K que aparecen al margen derecho de cada variable permiten estimar su valor absoluto como función de la densidad (N).

Efecto del número de plantas por mata en los parámetros del cultivo

El IAF en antesis femenina se incrementó de uno a cuatro con el aumento del NPM de uno a seis.

Cuadro 4. Efecto del número de plantas por mata en los componentes del rendimiento del maíz 'Olotón'.

Plantas por mata (número)	Rendimiento de la mazorca superior				Rendimiento de la mazorca inferior				Rendimiento por planta (g)
	Número de hileras	Número de granos por hilera	Peso de un grano (g)	Proporción de plantas con mazorca superior	Número de hileras	Número de granos por hilera	Peso de un grano (g)	Proporción de plantas con mazorca inferior	
1	12	24	0.37	1	11.6	21	0.42	0.75	182
3	11	27	0.44	1	8.0	21	0.45	0.20	147
4	12	20	0.35	1	9.5	13	0.25	0.50	100
5	11	20	0.41	1	5.5	11	0.27	0.20	94
6	11	19	0.40	1	8.6	9	0.39	0.10	87

El número óptimo de plantas por mata se estimó en 4.6 y la producción máxima de grano (peso seco) en 371.8 g m² (Fig. 5). La producción óptima calculada de materia seca aérea fue de 1445.3 g m² con una mata de 4.9 plantas (Fig. 6).

DISCUSION

Cuando el maíz 'Olotón' creció a una densidad de una planta por mata tuvo un ciclo de vida largo, con un período reproductivo adecuado para el llenado de grano. La planta fue de porte alto, con abundante producción del área foliar y de materia seca, prolífica en la producción de mazorcas, con un número y tamaño de granos favorable y con peso seco de grano relativamente alto. Sin embargo, el IC y el ER fueron bajos. Todas estas características coinciden con las reportadas por Kohashi y García (13).

Al aumentar el número de plantas por mata, se abatieron la materia seca aérea y el rendimiento de grano de la planta individual. Esto podría ser porque el incremento de la competencia ocasionó:

- modificaciones de su fenología;
- caída del peso seco de los órganos vegetativos, y
- menor expresión de los componentes del rendimiento.

En el período vegetativo, la mayor competencia ocasionó la disminución en la tasa de exposición de las hojas, lo que mostró un retraso en el desarrollo de la planta. El peso seco de la raíz, tallo, lámina foliar y área foliar se abatieron, lo que posiblemente afectó al rendimiento ya que todos estos órganos están relacionados con la producción de grano (11). Al disminuir el peso seco y volumen del tallo, se supone que se reduce

también el contenido absoluto de fotosintatos en este órgano. Se ha reportado que la menor cantidad de fotosintatos en el tallo al final del período vegetativo limita la formación y el tamaño de las inflorescencias femeninas (25), lo que evidentemente reduce el número de granos por llenar; además, la escasez de fotosintatos en el tallo que pueden ser translocados al grano en el período reproductivo también afecta negativamente el rendimiento (1, 18, 19). El área foliar de la planta disminuyó debido al retraso en la exposición de hojas y al menor tamaño de ellas.

En el estadio de anthesis femenina, el peso total de la planta se abatió en mayor medida que su área foliar, por lo que su RAF aumentó con el incremento en el NPM. Este resultado parece indicar que los individuos desarrollados en cepas con mayor número de plantas se vieron estimulados a mantener su altura de tallo y su área foliar. Esto les confirió mayor capacidad potencial para interceptar la luz, pero a costa de un menor grosor del tallo (elevación de la susceptibilidad al acame) y a una menor AEF (reducción de la eficiencia para transformar la luz interceptada en materia seca) (13).

En el período reproductivo, las plantas que crecieron con mayor NPM tuvieron menor área foliar y, posiblemente, su eficiencia fotosintética fue menor, ya que la tasa de asimilación neta, la cual se define como el incremento en el peso seco de las plantas por unidad de material de crecimiento activo, en este período se abate con el incremento de la competencia (13). Lo anterior, combinado con un menor número y tamaño de las inflorescencias femeninas, posiblemente ocasionó que tanto el número de mazorcas por planta como el número de granos por hilera de cada mazorca disminuyeran a un 50 por ciento. El menor número de mazorcas promedio por planta se debió a la menor frecuencia de plantas con dos o más mazorcas y al incremento del número de plantas infértiles. Se afectaron en mayor medida las dimensiones y componentes del rendimien-

to de la mazorca inferior que las de la mazorca superior. En ambos casos se abatió menos el peso seco del grano que los demás órganos de las mazorcas. El abatimiento en el peso seco de olotes y brácteas posiblemente afectó el rendimiento del grano, puesto que ambos constituyen reservorio de fotosintatos que después son translocados al grano (11). La caída en el número de granos por hilera posiblemente se debió a la disminución en la longitud de las mazorcas.

La ER promedio disminuyó al aumentar el NPM. Esto se debió, posiblemente, a la reducción de la tasa de asimilación neta en el período reproductivo (13), lo cual pudo ser provocado por el mayor sombreado de las hojas (2).

En síntesis puede decirse que en el período vegetativo el aumento en el NPM redujo el tamaño y la eficiencia de la fuente de carbohidratos de la planta, causa de una menor producción de materia seca en este período. Durante el tiempo reproductivo de las plantas, que crecieron con mayor competencia, se redujo también la fuente de fotosintatos con la disminución del área foliar, y el tamaño de su demanda se mermó al reducirse el número y tamaño de las mazorcas.

El abatimiento provocado en la producción de grano por planta con el incremento del NPM ocasionó que con una mata de 4.6 plantas se alcanzara una producción de grano por metro cuadrado que no aumentó de manera significativa. Para el caso de la producción de materia seca por metro cuadrado, el número óptimo estimado de plantas por mata fue de 4.9. El rendimiento óptimo estimado de grano fue de 371.8 g por metro cuadrado.

Existen evidencias de que con la siembra del maíz 'Olotón' en una condición favorable de cultivo y con una planta por postura, puede alcanzarse una densidad óptima de 5.25 plantas por metro cuadrado para un rendimiento de grano de 700 g m⁻² (13). Este rendimiento es mayor al consignado en este estudio y a la producción media de 170 g m⁻² reportado para las parcelas campesinas, en donde se cultiva 'Olotón' en matas y en condiciones limitantes de fertilidad de suelo (12). Pero la siembra en matas, aunque no es la más favorable para aprovechar al máximo la fertilidad de las parcelas (8), continúa siendo utilizada por los campesinos de Los Altos de Chiapas, porque favorece el empleo de herramientas manuales, facilita las labores de cultivo y maximiza la fuerza de trabajo disponible para la

agricultura. Asimismo permite el cultivo asociado del maíz con otras especies.

La producción de grano estimada con una mata de 3.3 plantas, que es el promedio de plantas maduras por mata en las parcelas campesinas (12), fue de 352.3 gramos. Este rendimiento es comparable a 371.8 g producidos por una mata de 4.6 plantas. Esto indica que si se mejoran las condiciones de cultivo en las parcelas campesinas, es posible elevar el rendimiento por mata, pero no el número promedio de plantas por mata.

CONCLUSIONES

La planta 'Olotón' obtenida en condiciones favorables y con competencia mínima, se caracterizó por tener un ciclo de vida largo, porte alto y abundante área foliar, prolífica en la producción de mazorcas y alto rendimiento de grano; su índice de cosecha y eficiencia del rendimiento fueron bajos. El incremento en el número de plantas por mata abatió de manera importante todos los parámetros de la planta, principalmente el peso seco de los órganos reproductivos y la eficiencia del rendimiento; no afectó el índice de cosecha e incrementó la razón del área foliar. En una condición favorable de cultivo, el número óptimo de plantas por mata fue de 4.6 y 4.9 para la producción de grano y materia seca, respectivamente.

LITERATURA CITADA

1. BARNETT, K.H.; PEARCE, R.B. 1960. Source-sink ratio alteration and its effects on physiological parameters in maize. Iowa Agric. and Home Econ. Exp. Journal. Paper no. J-10642. p. 294-299.
2. BUREN, I.L.; MOCK, J.J.; ANDERSON, C. 1974. Morphological and physiological traits in maize associated with tolerance to high plant density. Crop Science 14:426-429.
3. CARMER, S.G.; JACKOBS, J.A. 1964. An exponential model for predicting optimum plant density and maximum corn yield. Agronomy Journal 241-244.
4. COLVILLE, W.L.; MCGILL, D.P. 1962. Effect of rate and method of planting on several plant characters and yield of irrigated corn. Agronomy Journal 54:235-238.
5. COLVILLE, W.L. 1962. Influence of rate and method of planting on several components of irrigated corn yields. Agronomy Journal 54:297-300.
6. COLVILLE, W.L. 1968. Influence of plant spacing and population on aspects of microclimate within corn ecosystems. Agronomy Journal 60:65-66.

7. DONALD, C.M.; HAMBLIN, J. 1976. The biological yield and arvest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria. *Advances in Agronomy* 28:361-405.
8. DUNGAN, G.H.; LANG, A.; PENDLETON, L. 1958. Corn plant population in relation to soil productivity. *Advances in Agronomy* 10:455-474.
9. DWAYER, L.M.; STEWART, T. 1986. Leaf area development in field ground maize. *Agronomy Journal* 78:334-343.
10. ELSAHOOKIE, M.M.; WASSOM, C.E. 1984. Moisture regime and plant density effects on yield, yield efficiency, and other agronomic trails of several hybrids of corn (*Zea mays* L.). *Iraqi Journal of Agriculture Science* 2(4):29-42.
11. FELIZ VALENCIA, P. 1986. Análisis del patrón de crecimiento de tres variedades de maíz (*Zea mays* L.). Tesis de M.C. Montecillo, Méx., Colegio de Postgraduados 135 p.
12. GARCIA BARRIOS, L.; ALEMAN SANTILLAN, T.; PARRA VAZQUES, M. 1988. Estudio exploratorio de los factores que determinan el rendimiento de grano en el sistema de producción anual de maíz de área agropecuaria intensiva de la subregión San Cristóbal. CIES. (Informe de avances 1987)
13. GARCIA BARRIOS, L.; KOHASHISHIBATA, J. s.f. Efecto de la densidad de siembra sobre la fenología, crecimiento y componentes del rendimiento de un maíz criollo (*Zea mays* L. var. Olotón) de los Altos de Chiapas. CIES. Documento interno CIES.
14. HUNT, R. 1982. Plant growth curves: The functional approach to plant growth analysis. E. Arnold (Ed.) Great Britain. 247 p.
15. KOHASHISHIBATA, J.; GARCIA BARRIOS, L. s.f. Fenología, crecimiento y componentes de rendimiento de un maíz criollo de los Altos de Chiapas (*Zea mays* L. var. Olotón) cultivado bajo condiciones ambientales no limitantes. Documento CIES.
16. KONKHE, H.; MILES, S.R. 1951. Rates and patterns of seeding corn on high-fertility land. *Agronomy Journal* 43:488-493.
17. PARRA VAZQUES, R.; GARCIA BARRIOS, L.; GARCIA AGUILAR, M. DEL C.; NAHED TORAL, J.; POOL NOVELO, L.; SOTO PINTO, L.; LOPEZ MEZA, A. 1985. Desarrollo de la producción silvoagropecuaria de los Altos de Chiapas. CIES. Documento interno. 79 p.
18. SIMMONS, S.R.; JONES, R.J. 1985. Contributions of presilking assimilate to grain yield in maize. *Crop Science* 25:1004-1006
19. SWANK, J.L.; BELOW, F.E.; LAMBERT, R.J.; HASEMAN, R.H. 1982. Interaction of carbon and nitrogen metabolism in the productivity of maize. *Plant Physiology* 70:1185-1190.
20. TANAKA, A.; YAMAGUCHI, J. 1984. Producción de materia seca, componentes del rendimiento y rendimiento del grano en maíz. 3 ed. Chapingo, Méx., Colegio de Postgraduados. 120 p.
21. TURNER, M.D.; RABINOWITZ, D. 1983. Factors affecting frequency distribution of plant mass: The absence of dominance and suppression in competing monocultures of *Festuca paradoxa*. *Ecology* 64(3):469-475.
22. WATSON, D.J. 1947. Comparative physiological studies on the growth of field crops. I. Variation in net assimilation rate and leaf area between species and varieties, and within and between years. *Annals of Botany* 11:41-76.
23. WEINER, J.; THOMAS, S.C. 1986. Size variability and competition in plant monocultures. *Oikos* 47:211-222.
24. WELLHAUSEN, E.J.; ROBERTS, L.M.; HERNANDEZ X., E. 1951. Razas de maíz en México, su origen, características y distribución. México, Méx., OEE, SAG. Folleto Técnico no. 5.
25. WILLIAMS, W.A.; LOOMIS, R.J.; DUNCAN, W.G.; DOVRAT, A.; NUÑEZ, A.F. 1968. Canopy architecture at various population densities and the growth and grain yield of corn. *Crop Science* 8:303-308.

Effect of Long Term NH_4^+ Nutrition on Growth and Yield of Wheat Plants¹

H. F. Causin*, A. J. Barneix*, M.R. Guitman*

ABSTRACT

The effect of NH_4^+ nutrition in the development and growth of plants (cv. Klein dorado) was studied in a pot experiment under glasshouse conditions. Plants were grown in 1 kg sand (three plants per pot) and fertilized with a buffered solution containing NO_3^- or NH_4^+ as N-sources. Nitrogen concentration per pot was maintained at $2.0 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$. Tillering was restrained by manual removal. Plant samples were taken from 30 d after sowing until ripening. Root growth was severely inhibited and shoot growth was markedly depressed by long term NH_4^+ nutrition. Nevertheless, the specific absorption rate of nitrogen (SARN) was similar in both N treatments until almost two weeks after anthesis. Ear enlargement was accelerated and spikelet differentiated at a faster rate in NH_4^+ fed plants. However, at ripening, the total number of spikelets per ear, florets per spikelet and grain yield were significantly lower in NH_4^+ treatment. Total nitrogen concentration in different plant parts did not differ between N treatments, although larger amounts of free NH_4^+ and total free amino acids were found in the NH_4^+ treatment during the whole sampling period. Results are discussed in relation to toxic effects due to accumulation of endogenous free ammonium.

Key words: Ammonium toxicity, ear development, free amino acids, *Triticum aestivum* L.

RESUMEN

Plantas jóvenes de trigo (cv. Klein dorado) fueron cultivadas, en condiciones de invernáculo, en macetas con 1 kg de arena (tres plantas por maceta), las que se fertilizaron periódicamente por medio de un tampón con una solución con NO_3^- o NH_4^+ como fuentes de nitrógeno. Las plantas fueron demacolladas manualmente y la concentración de N por maceta se mantuvo en aproximadamente $2.0 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$. Se realizaron cosechas periódicas en cada tratamiento desde 30 d después de la siembra hasta la madurez. El tratamiento prolongado con NH_4^+ , como única fuente de N, redujo el crecimiento de las raíces. No obstante, la tasa específica de absorción de N (SARN) fue similar en ambos tratamientos, hasta casi dos semanas después de la antesis. Tanto el alargamiento del ápice como la diferenciación de las espiguillas se aceleraron en las plantas tratadas con NH_4^+ , las cuales, en la madurez, presentaron un menor número de espiguillas por espiga, flores por espiguilla y mayor porcentaje de flores fértiles abortadas en comparación con el tratamiento con NO_3^- . La concentración de N en las distintas fracciones no difirió significativamente entre ambos tratamientos, aunque las plantas cultivadas con NH_4^+ acumularon mayores niveles de NH_4^+ y aminoácidos libres durante el período de muestreo. Los resultados se discuten en relación con los posibles efectos tóxicos provocados por la acumulación de NH_4^+ libre en los tejidos.

INTRODUCTION

Different forms of N nutrition distinctly affect both growth and chemical composition of plants (4, 15, 24, 25). Nitrate is the most abundant N sources present in the soil, and the usual N source for the plants. However, ammonium nutrition has often been proposed as an optimum N source for plant growth as it avoids energy wastes due to NO_3^- reduction (24). Symptoms of water stress and toxicity have been reported by many authors when NH_4^+ was used as the sole N source (1, 4, 5, 7). Several factors

have been thought to be responsible for such symptoms, but, unlike the nitrate ion, the accumulation of free NH_4^+ in plant tissues exerts "per se" toxic effects (13). Nevertheless, many plant species are adapted to NH_4^+ as the sole N source (24), and some crops like wheat or rice increased their yield when NH_4^+ was added to a nutrient solution containing NO_3^- (9, 28, 29).

Grain production is the main component of crop yield, and all those factors affecting ear development also affect grain number and quality. Several authors have reported increments of grain yield when nitrogen fertilization was increased (10, 11, 18, 27); however there is little information on the effects of different N sources on spike development and grain setting. In this paper, we studied the effects of NO_3^- and NH_4^+ nutrition on growth, ear development and grain yield of wheat plants grown under greenhouse conditions.

¹ Received for publication 16 July 1992.

* Centro de Ecofisiología Vegetal, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Serrano 665, 1414, Buenos Aires, Arg.

MATERIALS AND METHODS

Plant culture

Wheat caryopses (*Triticum aestivum* L. cv. Klein Dorado) were germinated on wet tissue paper in the dark. After 72 h, six seedlings were transplanted to plastic pots containing 1 kg of washed sand and periodically irrigated with demineralized water. After a week, plants were reduced to three per pot and fertilization was started. Pots were randomly divided into two groups and the treatments were initiated by fertilizing each pot with 50 ml of a basal solution containing $10.0 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3} \text{KNO}_3$ or $5.0 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3} \text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ as N sources (Table 1).

Table 1. Nutrient composition of basal fertilization solution.

Macro nutrients	mol m^{-3}	Micro nutrients	mmol m^{-3}
KCl	4	KCl	50
CaCl_2	4	H_3BO_3	25
KH_2PO_4	2	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	2
FeEDTA 50%	2	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.5
		H_2MoO_4	0.5

Final nutrient concentration on each pot was 1/5 of the fertilizing solution. Plants were fertilized twice a week during the first 45 days and thrice a week during the following two weeks. Then, both the volume and frequency of fertilization were modified according to plant requirements. Samples of solution percolates from randomly selected pots were periodically analyzed for N content, and their pH recorded during the whole experimental period. When necessary, pots were washed with demineralized water in order to avoid excessive ion accumulation. The pH was periodically adjusted to 6.5 ± 1.0 by addition of H_2SO_4 or KOH to the treatment solutions.

Tillering was restrained by manual removal so that only the main shoot was allowed to grow. Three pots (i.e., nine plants) per treatment were sampled from 30 d after sowing (d.a.s.) until ripening, at the time intervals shown in the figures. After sampling, roots were carefully washed and rinsed with demineralized water. Plants were divided into roots, leaves plus stems and ears (if present), fresh weights recorded and then samples were freeze dried for further analysis. At ripening, grains were also analyzed as a distinct fraction. Before frying, shoot apices were microdissected and kept in a

mixture of ethanol (96%)-water-formaldehyde-acetic acid (gl.) (5.0:3.5:1.0:0.5) for further observation. The whole experiment was conducted in a glasshouse with daily temperatures of 10°C - 15°C at night and 25°C - 32°C during the day.

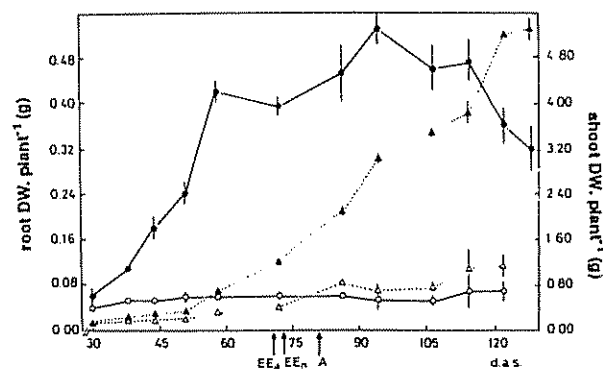
Plant analysis

Total nitrogen was determined by micro Kjeldahl analysis. Total free amino acids and free ammonium analysis: 0.1 g of freeze dried plant material were extracted with 10 ml of a mixture of ethanol-chloroform-water (12:5:3) overnight at 0°C . After filtration, 1.5 ml chloroform was added and, after shaking and addition of 2.25 ml of distilled water, the aqueous fraction was extracted. Samples were kept at -18°C until total partitioning and the aqueous fraction was then isolated for free amino acids and ammonium assays.

Total free amino acids were analyzed through the ninhydrin method (32). Free ammonium was determined by distillation of 0.5 ml aliquots plus 0.5 ml buffer pH 11 (NaOH 1 N: $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0.5 M, 1:1). Free NH_4^+ was collected on 2 ml of 2% boric acid and titrated with H_2SO_4 .

RESULTS

No differences were observed between plant dry weight in both N treatment at the first sampling. However, NO_3^- fed plants grew at a faster rate than the NH_4^+ -treated plants so that, at ripening, they had accumulated a 500% higher total dry weight (Fig. 1).

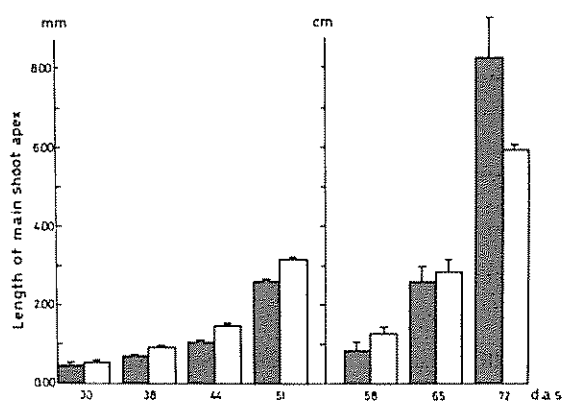


EE = Ear emergence (a= NH_4^+ treatment; n= NO_3^- treatment).
A = Anthesis. Vertical bars represent SE.

Fig. 1. Root dry weight (o) and shoot dry weight () of plants supplied with $\text{NH}_4\text{-N}$ (open symbols) or $\text{NO}_3\text{-N}$ (closed symbols).

Root dry weight in the NH_4^+ treatment remained almost constant during the whole sampling period, while it largely increased with time until two weeks after anthesis in the NO_3^- treated plants (Fig. 1). Shoot growth was also several times faster in the NO_3^- fed plants than in the NH_4^+ treatment.

The ammonium-fed plants showed a faster shoot apex elongation (Fig. 2) accompanied by an earlier spikelet initials differentiation (data not shown). Nevertheless, anthesis occurred at almost the same date in both treatments.



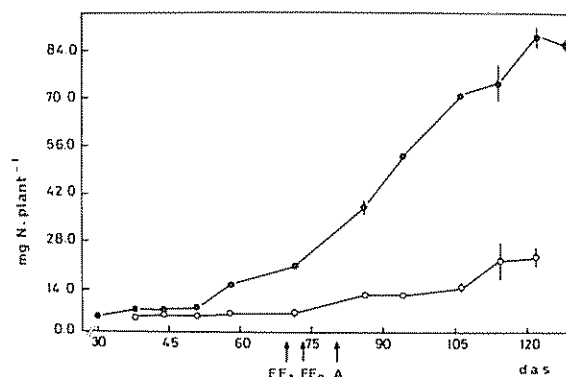
Vertical bars represent SE.

Fig. 2. Length of the main shoot apex from 30 d.a.s. until spike emergence in plants treated with $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (open bars) or $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (closed bars).

Ear maturation occurred at a faster rate under NH_4^+ nutrition, so that NH_4^+ -fed plants had completely matured 10 d before NO_3^- treatment. At ripening, the number of spikelets per spike and grains per spikelet were significantly lower in NH_4^+ -fed plants (Table 2). From the average number of florets per spikelet recorded at ear emergence (Table 3), 66.7%, 57.1% and 50.0% of the basal, central and terminal spikelets respectively had aborted in NH_4^+ -treated plants, while the corresponding values for control treatment were 33.3%, 37.5% and 33.3%. On the other hand, 40% (basal spikelets) to 60% (central and terminal spikelets) of the remaining florets set grain in the NO_3^- fed plants, while

no basal florets and only a 33% of the central and terminal spikelets did the same under NH_4^+ nutrition (Table 2). Thousand-grain weight was also lower in this treatment with respect to that with NO_3^- (Table 4).

Total N content per plant was slightly higher in the NO_3^- treatment than in the NH_4^+ -fed plants during the first 20 d of sampling (Fig. 3). However the NO_3^- fed plants accumulated nitrogen at a faster rate after this period. As this increment can be related to either a higher plant growth or to a higher N absorption per unit root weight, the specific absorption rate of N (SARN) was estimated in both N treatments (8). SARN did not differ between NO_3^- and NH_4^+ -fed plants until anthesis, although root growth was almost totally inhibited in the latter. The values obtained between 30 and 86 d.a.s. (5 d after anthesis) were 1.64 and 1.69 $\text{mg N} \cdot \text{root DW}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ respectively. At 94 d.a.s., root growth of NO_3^- fed plants began to decline until maturity; however, their SARN almost doubled that of NH_4^+ treatment during the same period (2.31 vs. 1.19 $\text{mg N} \cdot \text{root DW}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$).



EE = Ear emergence (a = NH_4^+ treatment; n = NO_3^- treatment). A = Anthesis Vertical bars represent SE.

Fig. 3. Total nitrogen content in plants supplied with $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (o) or $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (●).

Nitrogen percentage (N%) in shoot and spikes was almost the same under both NH_4^+ or NO_3^- nutrition, and only the roots of NH_4^+ -treated plants showed a significantly higher N concentration than the NO_3^- treatment during the sampling period (Fig. 4).

Table 2. Number of spikelets, florets and grain yield in the mature ear of wheat plants supplied with $\text{NO}_3\text{-N}$ (data rounded to the nearest digit).

	Florets • Spikelet ¹			Florets which set grain	
	Basal spikelets (2 and 3)*	Central spikelets (8, 9, 10 and 11)	Penultimate and terminal spikelets	Spikelets spike	Grains spike
NO_3	5 SE:0.12	6 SE:0.10	5 SE:0.15	19 SE:0.15	54 SE:0.88
NH_4	2 SE:0.05	3 SE:0.20	3 SE:0.36	16 SE:0.15	8 SE:0.70

SE: Standard error.

(*): Numbers between brackets stand for those spikelets, in ascending order, which were sampled.

Table 3. Number of florets per spikelet in the ears of wheat plants supplied with $\text{NO}_3\text{-N}$ or $\text{NH}_4\text{-N}$ and sampled at ear emergence (data rounded to the nearest digit).

	Basal spikelets (2 and 3)*	Central spikelets (8, 9, 10 and 11)	Penultimate and terminal spikelets
NO_3	8 SE:0.13	9 SE:0.08	8 SE:0.13
NH_4	6 SE:0.13	7 SE:0.11	6 SE:0.27

SE: Standard error

(*): Numbers between brackets stand for those spikelets, in ascending order, which were sampled.

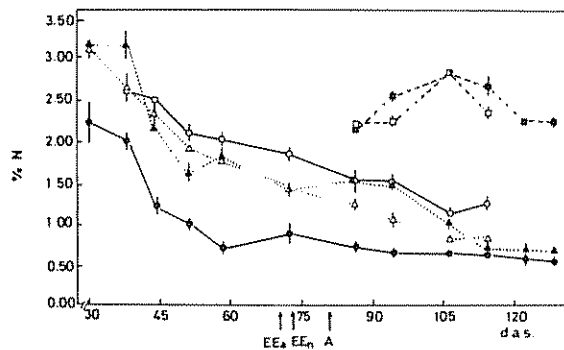
At the first sampling, roots of the NH_4 -treated plants showed 100% more free ammonium per g DW than roots of the NO_3 -fed plants (Fig. 5). On the other hand, while ammonium concentration in shoots remained constant in the NO_3 treatment, it largely increased in the NH_4 -fed plants, reaching a peak of $60 \mu\text{mol} \cdot \text{g DW}^{-1}$ at seven days before ripening. At

ripening, free ammonium in shoots had diminished, but was very high in the mature ears of NH_4 -fed plants in contrast to the levels found in the NO_3 treatment (Table 4). In both treatments, the concentration of free NH_4 in the grain fraction accounted for less than 0.5% of that present in the whole spike.

Table 4. Dry weight, NH_4^+ concentration and total free amino acids concentration in the mature ear and grain fractions of wheat plants supplied with NO_3^- -N or NH_4^+ -N.

Whole ear				
	Dry weight (g)	$\mu\text{mol NH}_4^+$ g DW ⁻¹	$\mu\text{mol aa g DW}^{-1}$	
NO_3^-	3.76	2.02	31.58	
	SE:0.05	SE:0.78	SE:1.85	
NH_4^+	0.88	82.54	96.37	
	SE:0.12	SE:2.04	SE:2.17	
Grains				
	Dry weight of 1 000 grains (g)	$\mu\text{mol NH}_4^+$ g DW	$\mu\text{mol aa g Dw}$	N % grain
NO_3^-	30.30	0.00 Sc: 0.00	0.00 SE: 0.00	3.24 SE: 0.04
NH_4^+	20.84	0.70 SE: 0.70	8.87 SE: 2.88	3.1 SE: 0.08

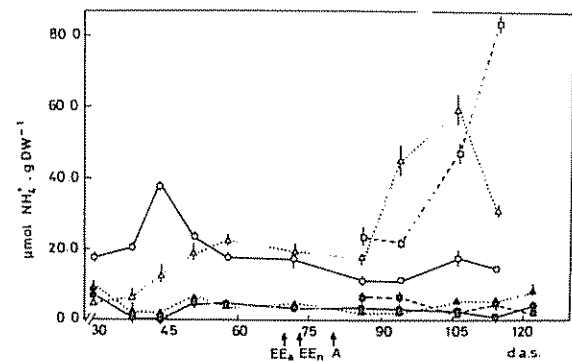
SE: standard error



EE = Ear emergence (a= NH_4^+ treatment; n= NO_3^- treatment).
A = Anthesis. Vertical bars represent SE.

Fig. 4. Nitrogen percent in root (o), shoot (Δ) and ear (\square) of plants supplied with NH_4^+ -N (open symbols) or NO_3^- -N (closed symbols).

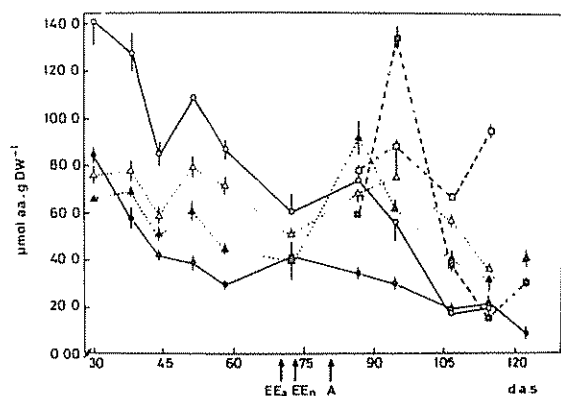
The concentration of free amino acids in roots was initially 60% higher in NH_4^+ -treated plants, and in both N treatments it decreased with time (Fig. 6). The concentration of free amino acids in shoots was initially lower than that present in the roots, and only slight differences were found between N treatments until ear emergence. In the spike, it increased during the first



EE = Ear emergence (a= NH_4^+ treatment; n= NO_3^- treatment).
A = Anthesis. Vertical bars represent SE.

Fig. 5. Free ammonium concentration in root (o), shoot (Δ) and ear (\square) of plants supplied with NH_4^+ -N (open symbols) or NO_3^- -N (closed symbols).

week after ear emergence, especially in those plants fed with NO_3^- -N. However, while in this case it rapidly decreased after that time, it remained constant in NH_4^+ treatment. From the content of total free amino acids present in mature ears, only 6% (NH_4^+ treatment) and 0% (NO_3^- treatment) were in the grain fraction (Table 4).



EE = Ear emergence (a = $\text{NH}_4\text{-N}$ treatment; n = $\text{NO}_3\text{-N}$ treatment).
A = Anthesis. Vertical bars represent SEE.

Fig. 6. Total free amino acids concentration in root (o), shoot (△) and ear (□) of plants supplied with $\text{NH}_4\text{-N}$ (open symbols) or $\text{NO}_3\text{-N}$ (closed symbols).

DISCUSSION

The causes of the toxic effects of the ammonium ion on higher plants have been widely reviewed (13, 24), but not aspects are completely clear. Impaired plant growth, high shoot: root ratios and premature senescence have been reported for young wheat plants (9, 12) and other species (1, 6, 31) when $\text{NH}_4\text{-N}$ was supplied at increasing external concentrations or during a prolonged period. Mehrer and Mohr (22) have recently described these symptoms as the "ammonium toxicity syndrome".

While in several cases the observed effects could be explained as a consequence of different metabolic changes due to $\text{NH}_4\text{-N}$ uptake and assimilation, it is known that the endogenous accumulation of free ammonium is "per se" deleterious to plant growth (5, 13, 17, 30).

In the present experiment, plant growth was severely inhibited by ammonium nutrition in both shoots and roots, (Fig. 1) and later the ear (Tables 2 and 3). However, the organ most severely affected was the root, since it slightly grew only slightly during the whole sampling period under $\text{NH}_4\text{-N}$ nutrition (Fig. 1), with a consequent increase in the shoot:root ratio. This impairment of root growth may be a consequence of the high free ammonium concentration (Fig. 5). However, the absorption capacity of the root did not seem to have

been affected, as the SARN from 30 d.a.s. until almost two weeks after anthesis were similar in both N treatments.

An estimation of the N translocation during 30 d to 86 d after sowing showed that the ammonium-fed plants had transported almost 100% more mg N per day and per mg of root DW than the $\text{NO}_3\text{-N}$ fed plants (data not shown). This would indicate that shoot growth under $\text{NH}_4\text{-N}$ nutrition was not initially impaired because of a deficient N translocation. The high levels of free $\text{NH}_4\text{-N}$ present in both root and shoot tissues of plants supplied with $\text{NH}_4\text{-N}$ suggest that toxic effects due to an excessive accumulation of free $\text{NH}_4\text{-N}$, rather than N deficiency, were responsible for the observed symptoms.

Most of the $\text{NH}_4\text{-N}$ absorbed by the roots is assimilated within the roots via the glutamine synthetase-glutamate synthase pathway, so that glutamine and other amino acids are the N derivatives transported to the shoot (2, 3, 19). As the root plays a key role in the process of $\text{NH}_4\text{-N}$ detoxification, the high levels of $\text{NH}_4\text{-N}$ found under our experimental conditions suggest that the capacity for ammonium assimilation of the root system has been largely overcome (Fig. 5). The fact that $\text{NH}_4\text{-N}$ assimilation was occurring is suggested by the high concentration of free amino acids present both in root and shoot tissues (Fig. 6), although $\text{NH}_4\text{-N}$ accumulation could also have affected protein synthesis (17).

Reduced shoot growth, accelerated apex development and leaf senescence are symptoms observed under water stress or nitrogen stress (8, 21, 23, 27), so that they are not specific responses to $\text{NH}_4\text{-N}$, but general responses of plants to stress. However, root growth was severely diminished under $\text{NH}_4\text{-N}$ nutrition rather than stimulated, as it is often observed under water or N stress (14, 16).

On the other hand, while N% in the grain fraction did not differ between treatments (Table 4), both grain setting and grain filling were markedly diminished in those plants with high endogenous concentrations of free $\text{NH}_4\text{-N}$ (Tables 2 and 4).

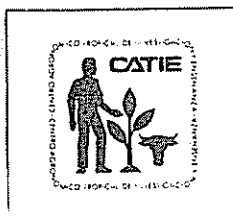
Apex development and ear emergence were initially accelerated by ammonium feeding (Fig. 2). Similar results have been previously reported for wheat plants (20), though the physiological underlying mechanism is still unknown.

It can be concluded that, under NH_4^+ nutrition, while the plant becomes older and the shoot:root ratio changes as a consequence of a highly impaired root growth, the NH_4^+ detoxification capacity of the plant decreases, thus increasing the ion concentration in the leaves and ears to toxic levels.

LITERATURE CITED

1. ALLEN, S.; SMITH, J.A.C. 1986. Ammonium nutrition in *Ricinus communis*: Its effect on plant growth and the chemical composition of the whole plant, xylem and phloem sap. *Journal of Experimental Botany* 184(37):1599-1610.
2. ARIMA, Y.; KUMAZAWA, K. 1977. Evidence of ammonium assimilation via the glutamine synthetase-glutamate synthase system in rice seedling roots. *Plant and Cell Physiology* 18:1121-1129.
3. ARIMA, Y. 1979. ^{15}N -Nitrate assimilation in association with glutamine synthesis in rice seedling roots. *Soil Science and Plant Nutrition* 25(3):311-322.
4. ARNOZIS, P.A.; FINDENEK, G.R. 1986. Electrical charge balance in the xylem sap of Beet and Sorghum plants grown with either NO_3^- or NH_4^+ Nitrogen. *Journal of Plant Physiology* 125:411-449.
5. BARKER, A.V.; MAYNARD, D.N.; LACHMAN, W.H. 1967. Induction of tomato stem and leaf lesions, and potassium deficiency, by excessive ammonium nutrition. *Soil Science* 103(5):319-327.
6. CAUSIN, H.F.; ARNOZIS, P.A. 1988. Efectos de las fuentes de nitrógeno sobre el crecimiento de la remolacha. *Ciencia del Suelo* 6(2):129-135.
7. COALDRAKE, P.D.; PEARSON, C.J. 1985. Development and dry weight accumulation of pearl millet as affected by nitrogen supply. *Field Crops Research* 11:171-184.
8. COOPER, H.D. 1986. Uptake, Assimilation and Circulation of Nitrogen Compounds in Cereals. Thesis Ph.D., University of Oxford. p. 45-47.
9. COX, W.J.; REISENAUER, H.M. 1973. Growth and ion uptake by wheat supplied nitrogen as nitrate, or ammonium, or both. *Plant and Soil* 38:363-380.
10. FLAIG, A.; ZOSCHKE, M. 1987. Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung (NH_4^+ -N, NO_3^- -N) auf die bildung von Protein und Proteinfractionen bei sommerannuellen Weizengenotypen. *Landwirtsch. Forschung* 40(2-3):196-203.
11. FLAIG, A.; ZOSCHKE, M. 1988. Untersuchungen über die Wirkung von Ammonium und Nitrat-Ernährung auf die Ertrags- und Proteingildung bei Hafergenotypen. *J. Agronomy and Crop Science* 160:289-295.
12. GASHAW, L.; MUGWIRA, L.M. 1981. Ammonium-N and Nitrate-N effects on the growth and mineral composition of Tricale, wheat and Rye. *Agronomy Journal* 73:47-51.
13. GIVAN, C.V. 1979. Metabolic detoxification of ammonia in tissues of higher plants. *Phytochemistry* 18:375-382.
14. GREGORY, P.J.; SHEPHERD, K.D.; COOPER, P.J. 1984. Effects of fertilizer on root growth and water use of barley in Northern Syria. *Journal of Agricultural Science* 103:429-438.
15. HAYNES, R.J.; GOH, K.M. 1978. Ammonium and nitrate nutrition of plants. *Biological Reviews* 53:465-510.
16. HOOGENBOOM, G.; HUCK, M.G.; PETERSON, C.M. 1987. Root growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agronomy Journal* 79:607-614.
17. IKEDA, M.; YAMADA, Y. 1978. Incorporation of inorganic nitrogen into protein fraction in tomato plants grow with ammonium and nitrate as nitrogen sources. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.* 52:161-168.
18. LANGER, R.H.M.; LIEW, F.K.Y. 1973. Effects of varying nitrogen supply at different stages of the reproductive phase on spikelet and grain production and on grain nitrogen in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 24:647-656.
19. LEA, P.; MIFLIN, J. 1974. Alternative route for nitrogen assimilation in higher plants. *Nature* 251:614-616.
20. LEYSHON, A.J.; CAMPBELL, C.A.; WARDER, G.F. 1980. Comparison of the effects of NO_3^- -N and NH_4^+ -N on growth, yield, and yield components of manitou spring wheat and conquest barley. *Canadian Journal of Plant Science* 60:1063-1070.
21. MASSLE, J.; PASSIOURA, J.B. 1987. The effect of soil strength on the growth of young wheat plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 14:643-656.
22. MEEHRER, I.; MOHR, H. 1989. Ammonium toxicity: description of the syndrome in *Sinapis alba* and the search for its caution. *Physiology Plant* 77(4):545-554.
23. ROSENTHAL, W.D.; ARKIN, G.F.; SHOUSEE, P.J.; JORDAN, W.R. 1987. Water deficit effects on transpiration and leaf growth. *Agronomy Journal* 79:1019-1026.
24. SALSAC, L.; CHAILLOU, S.; MOROT-GAUDRY, J.F.; LE-SAINT, C.; JOLIVET, E. 1987. Nitrate and ammonium nutrition in plants. *Plant Physiology Biochem.* 25(6):805-812.
25. SCHERER, H.W.; MAC KOWN, C.T. 1987. Dry matter accumulation N uptake, and chemical composition of tobacco grown with different N sources at two levels of K. *Jour. Plant Nutrition* 10(1):1-14.
26. SIBONY, M.; PINTHUS, M.J. 1988. Floret initiation and development in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Botany* 61:473-479.
27. SINCLAIR, T.R.; HORIE, T. 1989. Leaf nitrogen, photosynthesis and crop radiation use efficiency: A review. *Crop Science* 29:90-98.

28. TA, T.C.; TSUTSUMI, M.; KURIHARA, K. 1981. Comparative study on the response of Indica and Japonica rice plants to ammonium and nitrate nitrogen. *Soil Science and Plant Nutrition* 27(1):83-92
29. TA, T.C.; OHIRA, K.V. 1982. Effects of various environmental and medium conditions on the response of Indica and Japonica rice plants to ammonium and nitrate nitrogen. *Soil Science and Plant Nutrition* 27(3):347-355.
30. VOLLBRECHT, P.; KLEIN, E.; KASEMIR, H. 1989. Different effect of supplied ammonium on glutamine synthetase activity in mustard (*Sinapis alba*) and pine (*Pinus sylvestris*) seedlings. *Physiologia Plantarum* 77:129-135.
31. WILCOX, B.; MAGALHAES, J.; SILVA, F. 1985. Ammonium and nitrate concentration as factors in tomato growth and nutrient uptake. *J. Plant Nutrition* 8:989-998.
32. YEMM, E.W.; COCKING, E.C. 1955. The determination of amino acids with ninhydrin. *The Analyst* 80:209-213.



CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA (CATIE)

Anuncia la apertura del período de admisión para su Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, año académico 1995-1996:

- | | |
|--|--|
| <p>I. Maestría en Sistemas de Producción Agrícola Sostenible, con énfasis en:</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Cultivos Tropicales b. Fitoprotección c. Sistemas Agroforestales | <p>II. Maestría en Manejo Integrado de los Recursos Naturales, con énfasis en:</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Manejo de Cuencas Hidrográficas b. Manejo y Conservación de la Biodiversidad c. Manejo y Silvicultura de Bosques Tropicales |
|--|--|

Requisitos:

- Poseer título universitario en áreas afines.
- Superar proceso de admisión (examen y evaluación curricular).
- Menor de 35 años de edad (de preferencia).
- La admisión implica el ser considerado estudiante-asistente de investigación, durante su permanencia en el CATIE.

Fechas importantes para el año 1994

30 de abril:	Límite para la recepción de solicitudes
7 de junio:	Límite para la recepción de notas universitarias y documentos personales
3ra. semana de junio:	Examen de admisión (simultáneo en todos los países)
31 de agosto:	Comunicación de resultados del proceso de admisión
10 de noviembre:	Comunicación de asignación de becas administradas por el CATIE
30 de noviembre:	Límite de aceptación de beca por parte de los estudiantes
9 de enero de 1995:	Inicio de los cursos

Para mayor información, diríjase a:

CATIE
Programa de Enseñanza para el Desarrollo y la Conservación
Turrialba, Costa Rica - Apartado 7170
Teléfonos: (506) 556-1016, 556-6431 / Fax: (506) 556-1533

Efectos del Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar Raza B en el Sorgo. II. Aspectos Metabólicos¹

F. Leopardi,* D. Pérez de Acosta*

ABSTRACT

Plants of sorghum hybrid Chaguaramas III were infected with sugar cane mosaic virus (race virus), so as to determine the effects of a viral infection on carbohydrate concentration by compartment, the chlorophyll concentration in the leaves, and the total N concentration in the mature seeds. Results indicated that the SCMV did affect certain physiological aspects of the sorghum plants. Concentration of chlorophyll was less in the infected plants, and both chlorophyll a and b were affected equally. The concentration of soluble carbohydrates was significantly greater in infected plants during the first 30 days after infection. Sorghum grain quality (concentration of carbohydrates and N) was not affected by the virus.

RESUMEN

Se infectaron plantas de sorgo híbrido Chaguaramas III con el virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV-raza B), con el fin de determinar los posibles efectos de la infección viral sobre la concentración de carbohidratos por compartimiento, la concentración de clorofila en las hojas y la concentración total en semillas maduras. Los resultados indicaron que el SCMV afecta algunos parámetros fisiológicos de la planta de sorgo. La concentración de clorofila en las plantas enfermas fue menor que en las sanas, afectando por igual los tipos de clorofila a y b. La concentración de carbohidratos solubles en plantas infectadas fue significativamente mayor que en las sanas, durante los primeros 30 días después de la infección. La calidad de los granos de sorgo, en cuanto a su concentración de carbohidratos y N total, no se vio afectada por la presencia del virus.

INTRODUCCION

Desde el punto de vista fisiológico, una infección viral en forma sistémica puede disminuir la concentración de clorofila en la mayoría de los casos (3, 7, 14, 19, 27, 31). Sin embargo se ha informado acerca de incrementos en la concentración de clorofila en el caso de cítricos infectados con el virus de la tristeza (6). La disminución de clorofila parece relacionarse con la destrucción de los cloroplastos en plantas infectadas con virus (3, 5). También se ha observado el decrecimiento de la fijación de CO₂ y, consecuentemente, el de la tasa fotosintética en plantas con infección viral (14, 29).

Por otra parte, la infección viral puede provocar un incremento en la concentración de azúcares en las hojas de las plantas enfermas (6, 13), posiblemente por la translocación de los fotosintetatos en el resto de la planta (16, 19). Otros autores señalan que el efecto del virus se ejerce sobre el metabolismo de los carbohidra-

tos, que disminuye la actividad de algunas enzimas involucradas en la síntesis de azúcares (7, 8, 9, 10, 26).

En relación con el contenido de proteínas, Sasikumar (28) encontró el aumento de la concentración de N proteico en plantas de tomate infectadas con "leaf crinkle virus" (LCV). Sus observaciones sugieren que la síntesis de proteínas virales se realizan a partir del N no proteico. También en tomate, infectado con "yellow mosaic virus" (YMV), Leal y Lastra (19) encontraron que la concentración de proteínas solubles disminuía. Asimismo, en plantas infectadas con virus, se ha señalado la presencia de ácido ribonucleico viral (ARN), de proteínas constituyentes del cáspide y de enzimas que forman inclusiones virales. En el caso de SCMV, se determinaron, en el microscopio electrónico, inclusiones celulares del tipo molinete (*pinwheel*) (11, 23, 26).

Los efectos del SCMV en el crecimiento de plantas de sorgo y en la producción del cultivo han sido señalados por Ordosgoitti y Viera (22) y Mena *et al.* (20). Sin embargo es poco lo que se conoce acerca de los efectos por la infección del SCMV en la planta de sorgo a nivel fisiológico; por eso, en este trabajo, se determinaron las concentraciones de clorofila en hojas, de carbohidratos en los diferentes compartimientos de la planta y de N

¹ Recibido para publicación el 7 de diciembre de 1990.

* Universidad Simón Bolívar, Departamento de Biología de Organismos, Apartado Postal 89000, Caracas, Ven.

total en semillas maduras, a través del ciclo de vida de *Sorghum bicolor* infectado con SCMV-raza B, y compararon esas cantidades con los mismos parámetros determinados en plantas sanas y desarrolladas en idénticas condiciones.

MATERIALES Y METODOS

El virus del mosaico de la caña de azúcar, SCMV-raza B, presente en sorgo variedad TAM 428, fue reconcentrado en plantas de sorgo variedades Río, Atlas y Chaguaramas III.

El inóculo se preparó al macerar las hojas de sorgo con tampón de fosfato en proporción 1 ml:1 g, filtrando el macerado y agregando carborundum 600 mesh. Con esa preparación, se inocularon 300 plantas de sorgo variedad Chaguaramas III, de siete días de edad, las cuales se mantuvieron protegidas del ataque de insectos lo mismo que las 150 plantas utilizadas como control. Las cosechas se realizaron cada 10 días, tomando cinco plantas sanas y cinco enfermas mediante una tabla de números al azar. Las plantas fueron separadas por compartimientos en hojas, tallo, raíz y espiga.

Determinación de clorofila

La hoja utilizada para la extracción de clorofila fue escogida mediante el uso de una curva de concentración de clorofila por hojas de la planta, establecida en un ensayo preliminar, del que resultó con mayor concentración la tercera hoja, tomando como primera hoja la más joven. Se tomaron cinco discos de la misma hoja en cada planta, con un total de cinco plantas por tratamiento. Una vez pesados, los discos fueron macerados con acetona 80% y se les aplicó el procedimiento descrito por Bruinsma (4) para la determinación de clorofila a, clorofila b y clorofila total.

Determinación de carbohidratos

La determinación de los carbohidratos se efectuó en hojas, tallo, raíz y espiga, en cinco plantas por tratamiento, siguiendo el método descrito por McReady *et al.* (17). El material vegetal seco se maceró en etanol al 80%, obteniéndose el extracto alcohólico, en el cual se determinó la concentración de azúcares solubles. Al

residuo se le añadieron 0.65 ml de ácido perclórico al 52%; así se consiguió el extracto ácido para la evaluación de almidón.

Determinación de nitrógeno

De cada uno de los grupos de plantas, se tomaron cinco espigas maduras. Para la obtención del extracto ácido se siguió el método de Adler y Wilcox (2). La determinación de N total se realizó según la metodología descrita por Nelson (21).

Análisis estadístico

Los datos fueron procesados por medio de un análisis no paramétrico, mediante la prueba de Kruskal-Wallis, con una confiabilidad de 95% (PL 0.05) en la comparación entre cosechas y entre tratamientos.

RESULTADOS

En la Fig. 1a. pueden observarse las partículas virales del SCMV-raza B en una planta joven de sorgo. En tejidos infectados se encontraron también inclusiones celulares tipo molinete (Fig. 1b.).



Fig. 1. a) Partículas virales del SCMV-B en células de hojas jóvenes de sorgo; b) Inclusión citoplasmática del tipo "pinwheel" en tejido de sorgo infectado con SCMV-B.

Clorofila

En las plantas sanas, la concentración de clorofila a, clorofila b, clorofila total, y la relación a/b no presentaron diferencias significativas (PL 0.05) entre las cosechas durante todo el período de duración del ensayo, manteniéndose relativamente constante durante el ciclo de vida de las plantas (Figs. 2, 3, 4). Por el contrario, en las plantas enfermas las diferencias entre cosechas fueron significativas en lo que respecta a la concentración de clorofila a y b, y a la relación a/b.

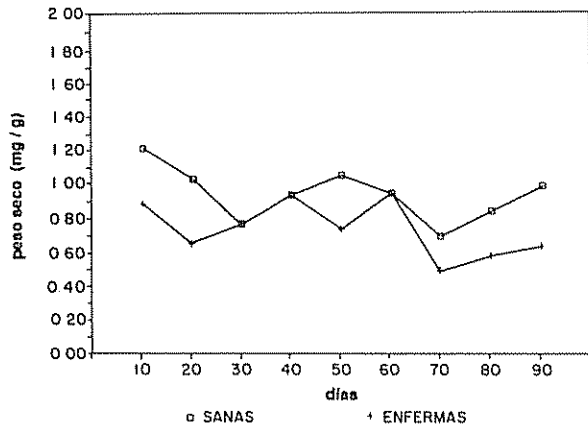


Fig. 2. Contenido de clorofila total en hojas de plantas sanas y enfermas durante el ciclo de cultivo.

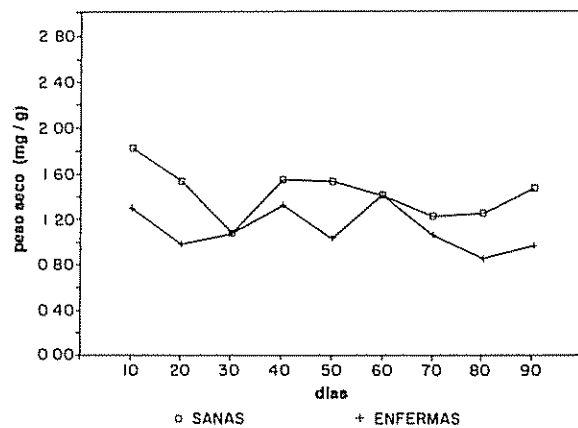


Fig. 3. Contenido de clorofila a en hojas de plantas sanas y enfermas.

La comparación estadística entre tratamientos (PL 0.05) indicó diferencias significativas entre plantas sanas y enfermas, en cuanto a la clorofila a, b y total, 20 d después de la siembra fue mayor en las plantas sanas. La concentración de clorofila b en las hojas presentó un patrón muy similar en ambos tratamientos (Fig. 4). La relación a/b no mostró diferencias significativas entre plantas sanas y enfermas.

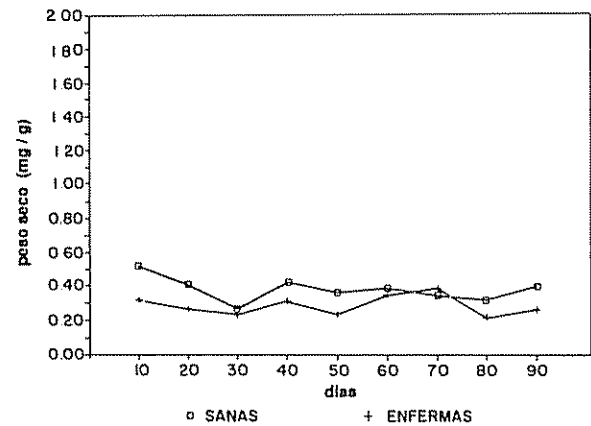


Fig. 4. Contenido de clorofila b en hojas de plantas sanas y enfermas.

Nitrógeno total

No se observó una diferencia significativa entre los tratamientos respecto de la concentración de N total en las espigas maduras de plantas sanas y enfermas. El porcentaje de N total en la semilla fue de 1.27 ± 0.11 en plantas sanas y 1.23 ± 0.12 en plantas enfermas.

Carbohidratos

Tanto en las hojas como en el tallo de las plantas enfermas, el porcentaje de azúcares solubles fue mayor que en las plantas sanas, hasta 30 d después de sembradas (Figs. 5 y 6). En el tallo de las plantas sanas, la máxima concentración de azúcares solubles se presentó 10 d antes de la floración (Fig. 6).

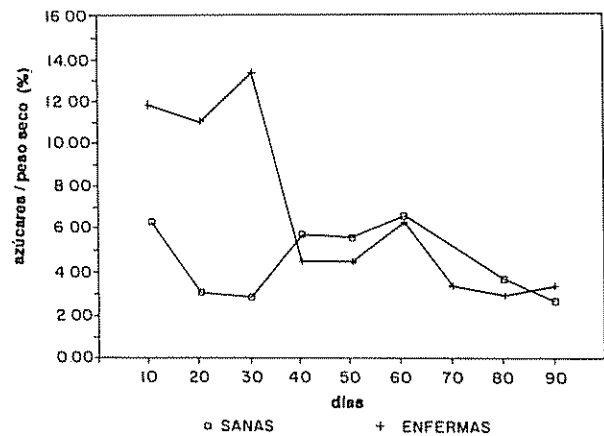


Fig. 5. Porcentaje de concentración de azúcares solubles en hojas de plantas sanas y enfermas

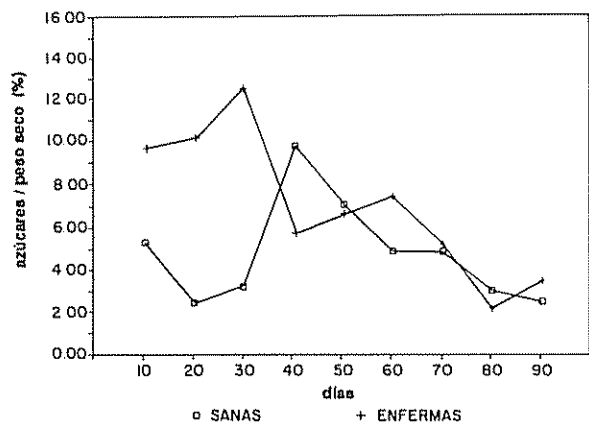


Fig. 6. Porcentaje de concentración de azúcares solubles en tallo de plantas sanas y enfermas.

El porcentaje de almidón en las hojas de las plantas enfermas (Fig. 7) fue mayor que en las sanas durante los primeros 20 d del ciclo de cultivo; en las hojas de plantas sanas (Fig. 6) y en el tallo de las enfermas (Fig. 8), la máxima concentración de almidón se observó 10 d antes de la floración.

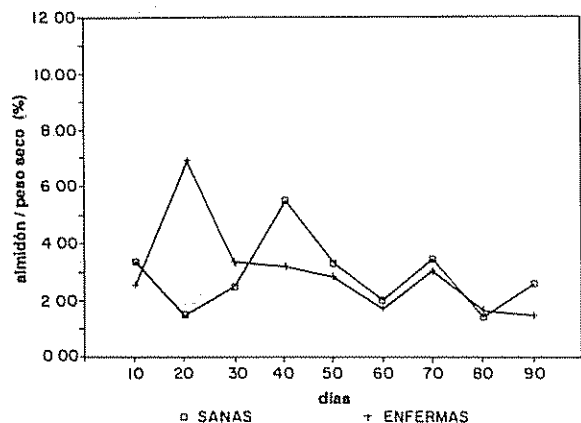


Fig. 7. Porcentaje de concentración de almidón en hojas de plantas sanas y enfermas.

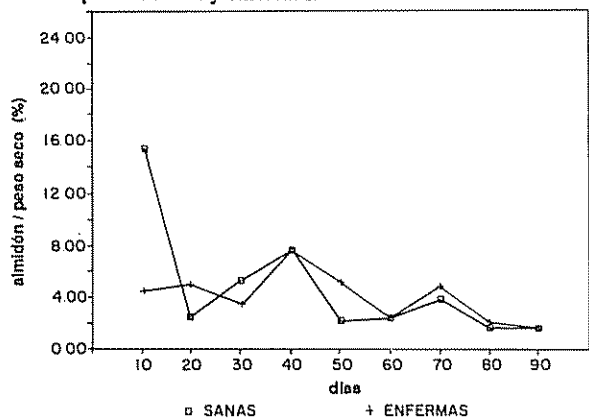


Fig. 8. Porcentaje de concentración de almidón en tallo de plantas sanas y enfermas.

En las raíces de plantas enfermas, el porcentaje de azúcares solubles fue significativamente mayor que en las sanas durante los primeros 30 d después de la siembra (Fig. 9), pero el porcentaje de almidón se mantuvo prácticamente constante durante todo el ciclo de cultivo (Fig. 10).

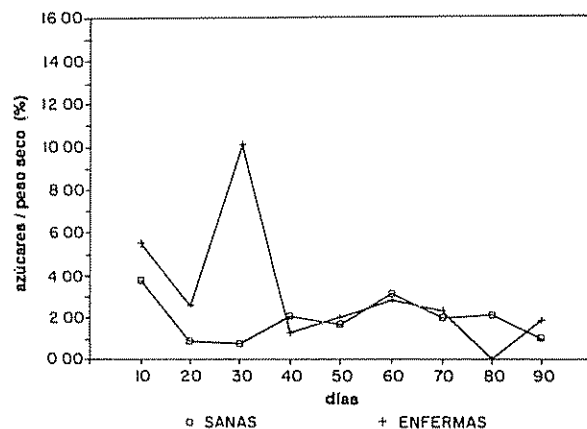


Fig. 9. Porcentaje de concentración de azúcares solubles en raíces de plantas sanas y enfermas.

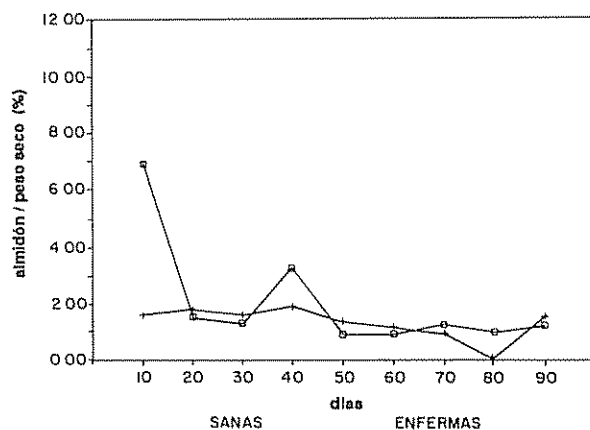


Fig. 10. Porcentaje de concentración de almidón en raíces de plantas sanas y enfermas.

En las espigas de ambos grupos de plantas, la concentración de azúcares solubles fue elevada al inicio de la floración (Fig. 11), alcanzando el máximo valor 10 d después de la misma. La concentración de almidón en las espigas aumentó progresivamente en el período de floración y maduración de los granos en ambos grupos (Fig. 12), alcanzando su máximo durante la cosecha final. No hubo diferencias significativas (PL 0.05) en la concentración de almidón de las espigas de plantas enfermas respecto de las sanas.

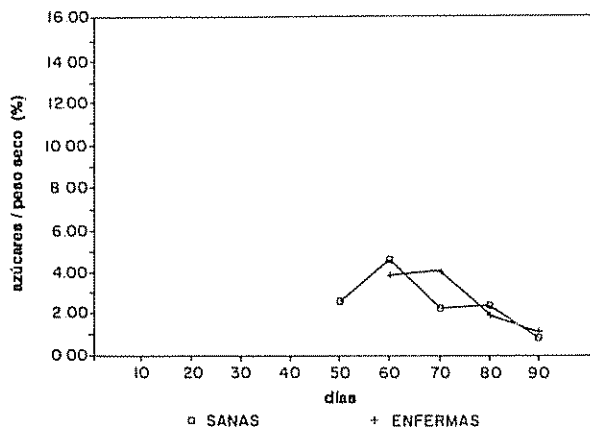


Fig. 11. Porcentaje de concentración de azúcares solubles en espigas de plantas sanas y enfermas.

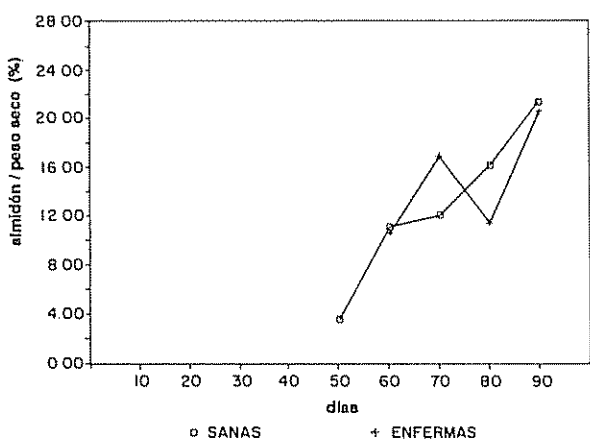


Fig. 12. Porcentaje de concentración de almidón en espigas de plantas sanas y enfermas.

DISCUSION

Las inclusiones virales determinadas en este estudio corresponden con las señaladas por Ordosgoiti (23) para el SCMV raza B, y por Giorda y Toler (11) para la raza H.

La disminución de la concentración de clorofila observada en ciertas plantas, por efecto de una infección viral, puede estar acompañada por un aumento de la actividad de la clorofila-oxidasa (24) o ser consecuencia de la degradación enzimática de la clorofila (12). En el sorgo infectado con SCMV-raza B también afectaría la concentración de clorofila a y b, pues la relación a/b, de acuerdo con el estudio, no varió de las plantas de sorgo enfermas a las sanas, tal y como sucede con el tomate infectado con YMV (19) y otros cultivos. En cambio, en la caña de azúcar infectada con

SCMV, la clorofila b se ve más afectada por la infección viral que la a, por lo que en esas plantas aumenta la relación a/b (1, 7).

La disminución de la concentración de clorofila en las plantas infectadas con virus se ha relacionado también con una disminución de la tasa fotosintética, que puede afectar el crecimiento de las plantas (14, 29). No obstante, en cebada se ha señalado que la tasa fotosintética por unidad de clorofila es mayor en plantas infectadas con virus BYDV que en plantas sanas (16). En plantas de caña de azúcar infectadas con SCMV, se ha observado una mayor incorporación de CO_2 en relación con la cantidad de clorofila presente en comparación con las plantas sanas (7). Se indican casos como el tabaco infectado con TMV, donde la tasa de fijación de CO_2 disminuye entre 30% y 35% en comparación con las plantas sanas, sin una disminución significativa de la concentración de clorofila en las hojas enfermas, por una deficiencia del aparato fotosintético (13). Durante este trabajo se observó una disminución de la concentración de clorofila en plantas enfermas en algunos períodos del ciclo de vida de la planta, pero también es posible una disminución de la tasa fotosintética por la desorganización de los cloroplastos, como lo ha sugerido Jensen (15).

Las alteraciones del metabolismo de los carbohidratos, en las plantas infectadas con virus, han sido reportadas por otros autores en diferentes cultivos. Jensen (15) encontró en la cebada infectada con BYDV una acumulación de carbohidratos en la hoja, situación que podría inhibir la fotosíntesis. El mismo autor sugirió la posible existencia de un mecanismo en las plantas infectadas con virus, mediante el cual la translocación de asimilados sería inversamente proporcional a la distancia entre los compartimientos, por lo que la acumulación de fotosintetatos sería mayor en las hojas de plantas enfermas (15). Eso no concuerda con lo observado en el sorgo infectado con SCMV, donde la acumulación de azúcares solubles en el compartimiento foliar coincidió con una aglomeración similar en el compartimiento radical.

En otros cultivos se ha reportado el aumento de la concentración de carbohidratos como producto de una infección viral; en el tabaco infectado con TEV se observó una acumulación de sacarosa, una disminución de la síntesis y un aumento de la degradación de este carbohidrato a azúcares sencillos, lo que incrementó, finalmente, la concentración de glucosa y fructosa (13).

En hojas de tomate infectado con TMV se ha hallado un aumento en la concentración de carbohidratos, que podría ser producto de un efecto del virus sobre la translocación, pues el patógeno se aloja en el floema de la planta (18, 19). En el sorgo infectado con SCMV parece que no existe un efecto del virus sobre la translocación, pues la acumulación de carbohidratos en las hojas se acompañó de un incremento de los mismos en el tallo. La concentración de almidón en las hojas de sorgo infectado con SCMV fue elevada, debido probablemente a la gran acumulación del carbohidrato en los cloroplastos afectados por la infección viral, tal como lo señalan Carrol y Kosuge (15) en tabaco infectado con TMV, y Pisi *et al.* (25) en *Chenopodium amaranticolor* con CMV.

En semillas de sorgo, según Subramanian *et al.* (30), la concentración de azúcares solubles disminuye durante la maduración de las espigas con el aumento de la concentración de almidón; así ocurrió en este trabajo, sin diferencias significativas entre plantas infectadas y sanas. Por otra parte, la concentración de N total en las semillas de sorgo, sano o infectado por el SCMV, no mostró diferencias significativas que pudieran vincularse con la presencia del virus, por lo que la calidad de los granos de sorgo infectado con el SCMV-raza B fue semejante a la de las plantas sanas.

LITERATURA CITADA

1. ABD-EL-NASSER, A.; SELLAM, M.A.; ABD-EL-BAZIK, A.; RUSHDI, M. 1981. Effects of strain D of sugarcane mosaic virus and its variants on sugarcane and maize plants. *Anz Schadlingskd Pflanzen Umweltschutz* 54(9):135-138.
2. ADLER, P.R.; WILCOX, G.E. 1985. Rapid perchloric acid digestion method for analysis of major elements in plant tissue. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 16(11):1153-1163.
3. AYANDRU, D.K.; SHARMA, V.C. 1982. Effects of cassava mosaic disease on certain leaf parameters of field-grown cassava clones. *Phytopathology* 72(8):1057-1059.
4. BRUINSMA, J. 1963. The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plant extracts. In *Photochemistry and Photobiology Chlorophyll Metabolism Symposium*. Pergamon Press LTD, GB. v. 2, p. 241-249.
5. CARROL, T.W.; KOSUGE, I. 1969. Changes in structure of chloroplasts accompanying necrosis of tobacco leaves systemically infected with tobacco mosaic virus. *Phytopathology* 59:953-962.
6. CHEEMA, S.; KAPUR, S.P.; CHOHAN, J.S. 1981. Some metabolic changes induced in kagzillime by tristeza infection. *Indian Phytopathology* 34(4):438-441.
7. CHORPADE, L.N.; JOSH, G.V. 1980. Studies in photosynthesis in sugarcane, var. CO 740 infected by TMV. *Indian Phytopathology* 33(1):33-37.
8. DIENER, T.O. 1963. Physiology of virus-infected plants. *Annual Review Phytopathology* 1:197-218.
9. FLIEGE, R.; FLÜGGE, I.V.; WERDAN, K.; HEIDT, H.W. 1978. Specific transport of inorganic phosphate, 3-phosphoglycerate and triosephosphates across the inner membrane of the envelope in spinach chloroplasts. *Biochemistry and Biophysics Acta* 502:232-247.
10. FLÜGGE, I.V.; FREISL, M.; HEIDT, W. 1980. Balance between metabolite accumulation and transport in relation to photosynthesis by isolated spinach chloroplasts. *Plant Physiology* 65:574-577.
11. GIORDA, L.M.; TOLER, R.W. 1986. Identification of sugarcane mosaic virus strain H isolate in commercial grain sorghum. *Plant Disease Report* 70:624-628.
12. GOODMAN, R.N.; KIRALY, E.; ZAILTLIN, M. 1967. The biochemistry and physiology of infectious plant diseases. N.J.D. Van Nostrand Co., Princeton. p. 354.
13. HOPKINS, D.; HAMPTON, R.E. 1969. Effects of tobacco etch virus infection upon the dark reactions of photosynthesis in tobacco leaf tissues. *Phytopathology* 59:1136-1140.
14. IRVINE, J.E. 1971. Photosynthesis in sugarcane varieties infected with strains of sugarcane mosaic virus. *Physiologie Plantarum* 24:51-54.
15. JENSEN, S.G. 1968. Photosynthesis, respiration and other physiological relationships in barley infected, with Barley Yellow Dwarf Virus. *Phytopathology* 58:204-208.
16. JENSEN, S.G. 1971. Metabolism and carbohydrate composition in Barly Yellow Dwarf Virus infected wheat. *Phytopathology* 62:587-596.
17. McREADY, R.M.; GUGCOLZ, J.; SILVEIRA, V.; WENS, H.S. 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry* 22(9):1156-1158.
18. LASTA, R.; GIL, F. 1981. Ultrastructural host cell changes associated with tomato yellow mosaic. *Phytopathology* 71:524-528.
19. LEAL, N.; LASTRA, R. 1984. Altered metabolism of tomato plants infected with tomato yellow virus. *Physiological Plant Pathology* 24:1-7.
20. MENA, H.; MANZANO, A.; ORDOSGOITTI, A. 1980. Reacción decultivares comerciales de sorgo al virus del mosaico de la caña de azúcar. *Revista del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Ven.) Serie A no. 1*.
21. NELSON, D.W. 1983. Determination of ammonium in KCl extracts of soils by the salicylate method. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 14(11):1051-1052.
22. ORDOSGOITTI, A.; VIERA, J. 1973. Una nueva enfermedad viral en maíz y sorgo en la zona central de Venezuela. *Dinámica Empresarial* 2(9):12-13.
23. ORDOSGOITTI, A. 1984. Algunas consideraciones sobre el mosaico de la caña de azúcar y su presencia en siembras de

- maíz y sorgo en Venezuela. In Jornadas Agronómicas (11.) Memorias. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Maracay p. 9.
24. PETERSON, P.D.; MCKINNEY, H.H. 1983. The influence of four mosaic diseases on the plastid pigments and chlorophyllase in tobacco leaves. *Phytopathology* 28:329-342.
25. PISI, A.; MARANI, F.; BERTACCINI, A. 1982. Intracellular inclusions in host plants infected with cymbidium mosaic virus. *Phytopathology* 21:27-30.
26. PREISS, J.; KOSUGE, T. 1976. Regulation of enzyme activity in metabolic pathways. In *Plant Biochemistry*. 3a ed., London, Academic Press. p. 227-336.
27. ROBERTS, P.L.; WOOD, K.L. 1982. Effect of a severe (p6) and a mild (w) strain of cucumber mosaic virus on tobacco leaf chlorophyll, starch and cell ultrastructure. *Physiological Plant Pathology* 21:31-37.
28. SASIKUMARAN, S.; KANDASWAMY, T.K.; VIDHYASEKARAN, P. 1979. Physiology of tomato plants affected by leaf curl virus. *Indian Pathology* 32:352-359.
29. SHARMA, O.P.; KHATRI, K.L.; BANSAL, R.D. 1981. Cucumber mosaic virus and/or *Sphaerotheca fuliginea* (Sch.) Poll. as affecting the dry weight, moisture, chlorophyll and carbohydrate content of *Cucumis melo* L. *Phytopathology* 20:133-135.
30. SUBRAMANIAN, V.; JAMBUNATHAN, R.; SEETHARAMA, N. 1983. Biochemical changes during seed development in sorghum (*Sorghum bicolor*). *Phytochemistry* 22(5):1097-1101.
31. TU, J.C.; FORD, E. 1968. Effect of maize dwarf mosaic virus infection on respiration and photosynthesis of corn. *Phytopathology* 58:282-284.

ANDERSON, R.C. 1992. Nematode parasites of vertebrates: Their development and transmission. U.K., C.A.B. International. 578 p.

This book contains information on six orders, 27 superfamilies, 69 families, 58 subfamilies, and 561 species of nematodes parasitic on humans and domestic and wild animals. The introduction deals with development and the strategies used by nematodes to increase and improve the possibilities for successful parasitism, as well as strategies used for transmission. The following chapters are organized in two parts. Part I (six chapters) deals with "Subclass Secernentea;" this taxon includes the vast majority of the nematode parasites of vertebrates, which belong to the orders Rhabdithida, Strongylida, Oxyurida, Ascaridida, and Spirurida. Part II (one chapter) refers to the "Subclass Adenophorea," with the single order, Enoplida. Each chapter covers a

single order, except Spirurida, whose suborders Camallanina and Spirurina are treated separately; in each case the superfamilies and families comprising each order are covered in a detailed, extensive account, each with its own list of references. A total of 33 figures illustrate this book, mostly high-quality drawings of nematodes and diagrams of their development and transmission on hosts, which concludes with an index.

The vast amount of information included, its quality and diversity, the depth in which many cases are covered, as well as the unified overview of development, life cycles and transmission, all make this book an extremely useful source of knowledge for people dealing with nematode parasites.

RÓGER LÓPEZ CH.
LABORATORIO DE NEMATOLOGÍA
CIPROC, ESCUELA DE FITOTECNIA
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Análisis de Conglomerados de los Agrosistemas del Partido de Puán, Argentina¹

A.O. Gargano*, M.A. Adúriz*,
M.C. Saldungaray*

ABSTRACT

The objective of this study was the characterization of the farming systems of the county of Puan employing cluster analysis. Puan is situated to the southwest of Buenos Aires (Arg.), covers 631 606 ha and has five homogeneous edaphic areas. The basic methodology was: 1) determination of farm universe, stratification according to farm area, and sampling; 2) agricultural survey, from June 1990 to May 1991, of 152 farmers (16.2% of the total); and 3) clustering of systems employing four variables, namely: winter crops, summer crops, beef cattle, and meat sheep. Common activities among clusters oscillated between 72% and 85%. The predominant system in all areas was livestock production, present in 72.6% of the total surface and 80% of the farms. The remainder were devoted to mixed production. Beef cattle prevailed in all the clusters, and the subsystem averages were: breeding and production of light steers 60.7%; fattening 21.5%; breeding and production of heavy steers 14.8%; and breeding 3.0%. Small farms had more agriculture than larger ones. It was concluded that the characterization of farming systems must be done in homogeneous climatic and edaphic areas.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue tipificar los sistemas agropecuarios del partido de Puán, mediante la técnica de análisis de conglomerados. Puán se encuentra al suroeste de la provincia de Buenos Aires (Arg.) con 631 606 ha de superficie y cinco áreas edáficas homogéneas. La metodología básica fue: 1) determinación del universo de predios, estratificación por superficie y muestreo estadístico; 2) encuesta agropecuaria del período junio de 1990 a mayo de 1991 con 152 productores que representaban el 16.2% del universo; y 3) cálculo de los índices que permitieron crear cuatro variables -cosechas fina y gruesa, ganados vacuno y ovino-, utilizadas para determinar los conglomerados o grupos. La actividad común de los grupos hallados osciló entre 72% y 85 por ciento. En todas las áreas predominaron los sistemas ganaderos, que ocuparon el 72.6% de la superficie total y representaron el 80% de los predios totales. El resto correspondió a los sistemas mixtos. El ganado vacuno prevaleció en todos los grupos y los subsistemas ganaderos presentaron los siguientes promedios totales: cría-recría, 60.7%; engorde, 21.5%; cría-recría-engorde, 14.8% y cría, 3.0 por ciento. Los estratos de menor superficie presentaron, en general, más agricultura que los más grandes. Se concluyó que la tipificación de sistemas debe realizarse en áreas homogéneas desde los puntos de vista climático y edáfico.

Palabras clave: Tipificación de agrosistemas, análisis de conglomerados.

INTRODUCCION

En los últimos años, se han desarrollado estudios sobre los sistemas agropecuarios regionales ubicados en el sur de la provincia de Buenos Aires (Arg.) que involucraron a tres partidos (6, 7, 9). Este trabajo forma parte de esa línea de investigación, cuya hipótesis es la existencia de una brecha entre las productividades reales y potenciales. El objetivo final

es la elaboración de modelos que superen los niveles actuales para mejorar la tecnología disponible y la empleada por algunos productores. El logro de dicho objetivo requiere diferentes etapas; en este trabajo se desarrollará la primera de ellas, que consiste en tipificar los sistemas de producción predominantes. La importancia del diagnóstico, como paso preliminar, en proyectos de desarrollo agropecuario ha sido puntualizado por varios autores (2, 15, 19).

La tipificación de sistemas se realiza mediante diferentes técnicas, pero todas parten del cálculo previo de diversos índices físicos. En algunos casos, los predios no se agrupan (3, 5, 6, 7, 14) y, en otros, se emplean técnicas conformadoras de grupos (1, 8, 10, 11). El agrupamiento facilita el análisis, pues, en áreas relativamente extensas, es normal una gran heterogeneidad de sistemas (20). Recientemente, Gargano *et al.* (9, 10)

¹ Recibido para publicación el 4 de agosto de 1992.

Los autores agradecen a los productores agropecuarios, por la información brindada; a la Ingeniera Agrónoma C. Tucac, por su participación en las encuestas; a la Dra. N. Winzer y al Lic. R. Camina, docentes del Depto. de Matemáticas de la Universidad Nacional del Sur, Arg., por los análisis estadísticos, y a la Municipalidad de Puán, Arg., por el apoyo financiero.

* Ingenieros agrónomos, Depto. de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, 8000, Bahía Blanca, Arg.

tipificaron los sistemas agrupándolos "manualmente" con la técnica de análisis de conglomerados (*cluster analysis*), y concluyeron que esta última permite disponer de mayor información sobre los sistemas, lo cual favorece la posterior etapa de modelación. Dichos resultados e idénticos objetivos han sugerido el uso de esa técnica en este trabajo.

MATERIALES Y METODOS

El partido de Puán, ubicado en el suroeste de la provincia de Buenos Aires (Arg.), tiene una superficie de 631 606 ha (Fig. 1). Conocer el suelo y el clima de una región antes de la tipificación de los sistemas es esencial, ya que los resultados tendrán validez sólo si fueron obtenidos sobre áreas homogéneas.

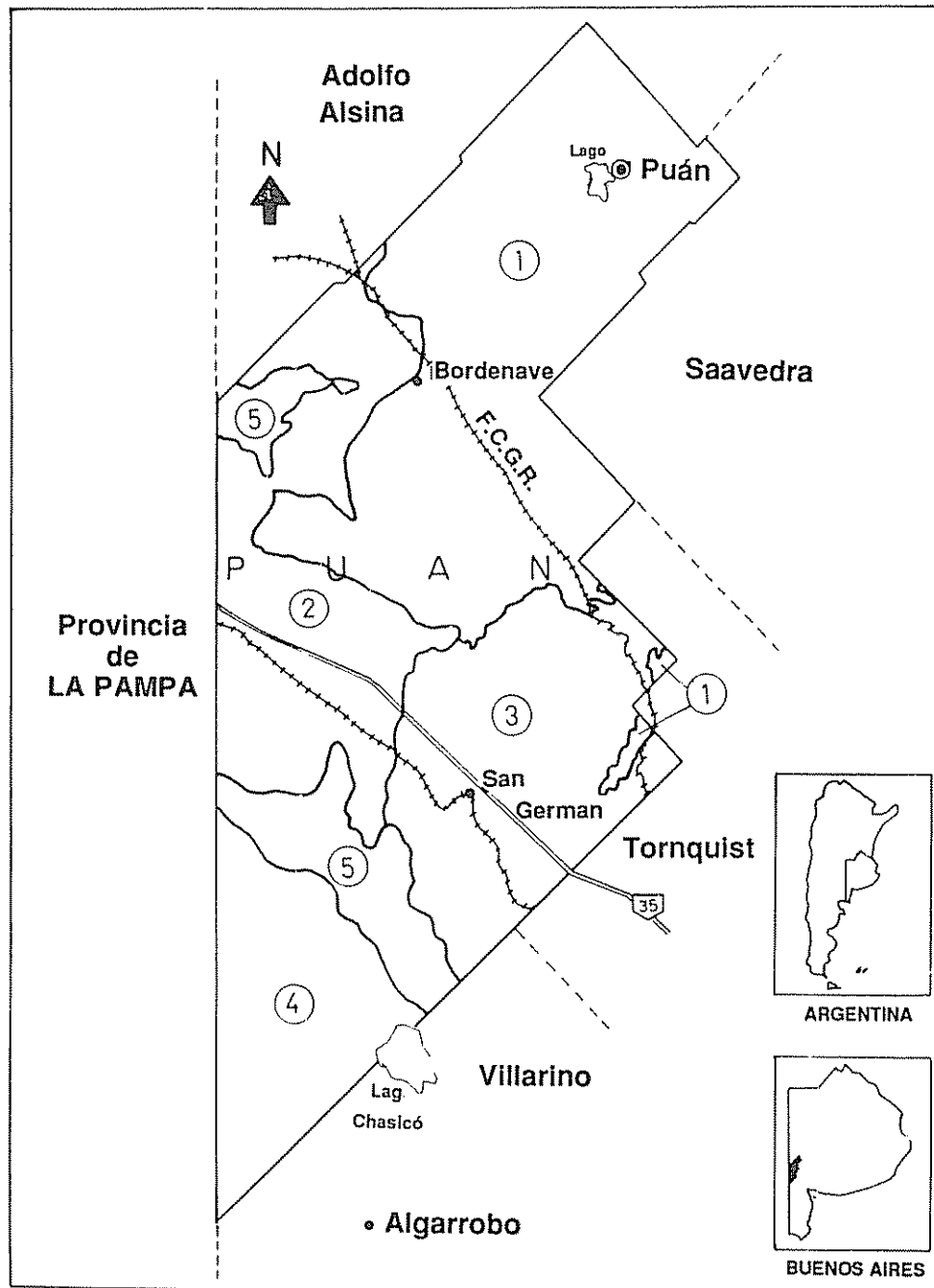


Fig. 1. Mapa de ubicación de las áreas 1, 2, 3, 4 y 5 en el partido de Puán, Buenos Aires, Arg.

De acuerdo con el "Mapa de suelos de la provincia de Buenos Aires", escala 1:500 000 (13), el partido de Puán está dividido en cinco dominios edáficos que, en adelante, se llamarán áreas. En ellas predominan subgrupos de suelos que tienen las siguientes características (13):

- Area 1 (38.4%). Piedemonte ondulado con argiudoles y argiustoles típicos, franco fino, loésicos, poco profundos y con inclinación. Susceptibles a la erosión eólica y con una profundidad que oscila en los 100 cm, limitada por una capa de tosca.
- Area 2 (19.9%). Planicie con haplustoles énticos, franco grueso y con una profundidad media de 60 cm sobre tosca, con erosión eólica.
- Area 3 (19.9%). Planicie disectada; de origen loésico, con escasa profundidad (40 cm - 80 cm), sobre tosca o roca. Haplustoles típicos poco profundos en las cimas. Pendientes con erosión hídrica y valles arcillosos con más de 100 cm de espesor.
- Area 4 (12.8%). Aterrazado. Extensas planicies arenosas con lagunas y salitrales, atravesadas por valles arenosos. En los médanos predominan los torripsament ústicos y ustipsament típicos, de gran espesor (5 m ó más). Susceptibles a la erosión eólica, muy permeables y con sales en los bajos.
- Area 5 (7.8%). Depresiones lagunares. Ustartent típico, grueso, en faldeos y pendientes cortas, asociado con Haplustol éntico en las pendientes largas. Con alta permeabilidad; presentan sales de sodio y carbonato de calcio, susceptibles a la erosión eólica.

Las precipitaciones decrecen en dirección Norte-Sur. Las medias anuales en las localidades de Puán (período 1933-1990), Bordenave (período 1928-1991) y Algarrobo (período 1911-1991), son: 704 mm, 638 mm y 491 mm, respectivamente. Las temperaturas medias del mes más cálido (enero) y más frío (julio), en esas localidades, difieren sólo en décimas y el promedio de las tres es de 22.5 °C y 6.5 °C, respectivamente.

Todos los análisis se hicieron teniendo en cuenta las mencionadas áreas edáficas homogéneas. La información para determinar los sistemas-tipo se obtuvo a través de encuestas a una muestra de productores, para lo cual fue necesario conocer el universo de predios. A partir de un mapa rural, cuyo registro de

superficies y propietarios fue actualizado en el municipio de Puán, se determinó un total de 1108 predios. Con la ayuda de un pantógrafo se marcaron los límites de las áreas en el mapa (Fig. 1). Todo predio dividido por dichos límites tenía un área cuando más del 50% de su superficie. Se descartaron los predios de menos de 150 ha, porque de acuerdo con resultados previos, en general, no conforman una empresa por sí mismos, como los de más de 2 000 ha por ser poco frecuentes. Esto redujo el universo a 939 predios, cuya superficie sumó 435 124 hectáreas.

Utilizando el programa DBase III Plus se incorporó el universo de productores identificados con un número, nombre, apellido y superficie del predio. Ya que la superficie es una variable que tiene un papel trascendente sobre las actividades agropecuarias por desarrollar (7, 12, 20) se plantearon tres estratificaciones y los archivos generados se trasladaron a Lotus 123, con el que se calcularon las medias y desvíos estándar. Se eligió la estratificación de menor desvío, a la que le correspondió el menor tamaño de muestra, y estuvo conformada por cuatro estratos de: 150 ha - 350 ha, 351 ha - 600 ha, 601 ha - 1 000 ha y 1 001 ha - 2 000 hectáreas. Las muestras se determinaron mediante estratificación óptima (18):

- Número total de predios por encuestar (n).

$$n = \frac{k \left(\sum_{i=1}^k N_i \cdot D_i \right)^2}{\frac{N^2 \cdot d^2}{t^2} + \sum_{i=1}^k N_i \cdot D_i^2}$$

- Número de predios por encuestar dentro de cada estrato (n_i).

$$n_i = \frac{n \cdot N_i \cdot D_i}{\sum_{i=1}^k N_i \cdot D_i}$$

donde:

i= predios 1, 2, 3,..., k.

N_i= tamaño de cada i estrato.

D_i= desvío estándar de cada estrato con respecto a la media de cada estrato.

Cuadro 1. Cantidad de predios y superficies (ha) encuestadas en cada área y estrato.

Áreas	Predios encuestados	Estratos*				Totales
		1	2	3	4	
1	cantidad	18	11	8	8	45
	sup. total	5 032	5 055	6 501	11 861	28 449
2	cantidad	14	10	8	7	39
	sup. total	3 274	4 610	5 915	10 512	24 311
3	cantidad	8	9	6	11	34
	sup. total	2 150	3 997	4 319	14 188	24 654
4	cantidad	2	2	4	6	14
	sup. total	629	1 035	2 555	8 366	12 585
5	cantidad	2	1	2	6	11
	sup. total	420	596	1 933	7 831	10 780

1= 150-350 ha; 2= 351-600 ha; 3= 601-1 000 ha; 4= 1 001-2 000 ha

N= número total de predios en el universo.

d= error máximo permitido (5% de la superficie media de los predios del universo).

t= nivel de confianza (95%).

Los predios totales por encuestar fueron de 152% - 16.2% del universo, elegidos al azar.

La encuesta abarcó del 1 de junio de 1990 al 31 de mayo de 1991 y requirió la siguiente información: identificación, superficie, tenencia, uso del suelo, maquinarias, hacienda, manejo agrícola y ganadero, personal, sanidad animal y vegetal, e información económica de ingresos y costos. Parte de esta información fue analizada en el presente trabajo y la restante se usará en otra publicación. Las encuestas fueron personales, con visitas a los predios entre los meses de junio y setiembre de 1991. Algunos se debieron reemplazar porque cambiaron de estrato o no constituían un sistema completo. En el Cuadro 1 se indican los predios y superficies encuestados, que representaron el 15.2% y 23.2% de sus universos respectivos.

En cada predio se calcularon los índices descritos en el Cuadro 2. Con ellos se determinaron las siguientes variables:

— Cosecha fina = índice agrícola x índice general.

— Cosecha gruesa = (1 - índice agrícola) x índice general.

— Ganado vacuno = índice ganadero x (1 - índice general).

— Ganado ovino = (1 - índice ganadero) x (1 - índice general).

Estas variables determinan la proporción de superficie destinada a cada una de esas actividades. El cálculo de las dos últimas requiere conocer previamente la receptividad de cada especie, que luego se invierte para tener "superficie/equivalente" y, al multiplicar por los equivalentes, se obtiene la proporción de la superficie. Estas variables fueron calculadas en todas las empresas encuestadas. El paso siguiente fue la conformación de los conglomerados o grupos de empresas para lo que se empleó el paquete BMDP (*Biomedical Programs* Versión 1981) y el programa Cluster, en dos etapas:

1. Se utilizó el índice de Czekanowsky (16), aplicado a proporciones, para medir el nivel de afinidad entre pares de empresas, pues determina la proporción de superficie que dos empresas destinan a una misma actividad. La expresión es la siguiente:

$$I. \text{ de C. (a,b)} = \sum_{i=1}^k \min [P(a_i); P(b_i)]$$

donde:

a y b: empresas.

k: número de variables utilizadas.

$P(a_i)$: proporción que la empresa a dedica a la actividad i.

Con estos cálculos se obtiene una matriz de afinidad o de distancias entre las empresas.

2. Los conglomerados o grupos se determinaron con el método de ligamento completo (4). La afinidad entre las empresas de cada grupo estará determinada por la mínima proporción de actividad común entre ellas. Estos grupos fueron representados por dendrogramas y se tipificaron con los índices del Cuadro 2. Se descartaron los grupos formados por menos del 10% de las empresas del área y las empresas que quedaron aisladas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Uno de los factores que contribuye a definir el uso del suelo, y por ende el tipo de sistema, es la tenencia de

Cuadro 2. Descripción de los índices y rangos empleados para tipificar los sistemas de producción.

Índices	Rangos discriminantes
1. General = $\frac{\text{superficie agrícola}}{\text{superficie total}}$	0.00-0.20 Netamente ganadero
	0.21-0.40 Predominantemente ganadero
	0.41-0.60 Mixto
	0.61-0.80 Predominantemente agrícola
2. Ganadero = $\frac{\text{equivalente vacunos}}{\text{equivalente totales}}$	0.81-1.00 Netamente agrícola
	0.00-0.40 Predomina lanares
	0.41-0.60 Ganadería mixta
3. Vacunos carne = $\frac{\text{total nacidos}}{8 \times \text{temeras} + \text{total nacidos}}$ $\text{Ic} = \frac{(\text{temeros})^2}{(\text{temeros})^2 + 2 \times (\text{animal de engorde})^2}$	0.61-1.00 Predomina vacunos
	0.00-0.25 Predomina engorde
	0.26-0.50 Predomina cría-recría-engorde
	0.51-0.75 Predomina cría-recría
	0.76-1.00 Predomina cría
4. Agrícola = $\frac{\text{sup. cosecha fina}}{\text{sup. agrícola}}$	0.00-0.40 Predomina cosecha gruesa
	0.41-0.60 Cosecha mixta
	0.61-1.00 Predomina cosecha fina

Se calcula si el índice general es mayor que cero.

Nota: Cosecha fina= trigo, avena y cebada; cosecha gruesa= girasol, sorgo granífero y maíz.

la tierra (5, 17). Por ello, el muestreo también debería estar definido por esa variable. Sin embargo, ya que en partidos colindantes con Puán se detectó que el arrendamiento tuvo escasa importancia (7, 9), en este trabajo la tenencia se determinó después del muestreo con base en la información recogida en las encuestas, que permitieron tipificar los sistemas. El Cuadro 3 es una síntesis de los resultados, ya que contiene solamente el promedio de las áreas. Muestra la irrelevancia de los arrendatarios y que, si bien los propietarios-arrendatarios tomaron en arrendamiento el 40% de la superficie que trabajaron, ese porcentaje representa sólo el 14% de la superficie del universo.

Cuadro 3. Tenencia de la tierra. Promedio de las áreas (porcentaje de predios).

Estratos (ha)	Propietarios		
	Propietarios	arrendatarios	Arrendatarios
150-350	59	39 (44)	2
351-600	58	39 (44)	3
601-1 000	57	39 (41)	4
1 001-2 000	79	21 (34)	-

Entre paréntesis se indica el porcentaje medio de superficie arrendada.

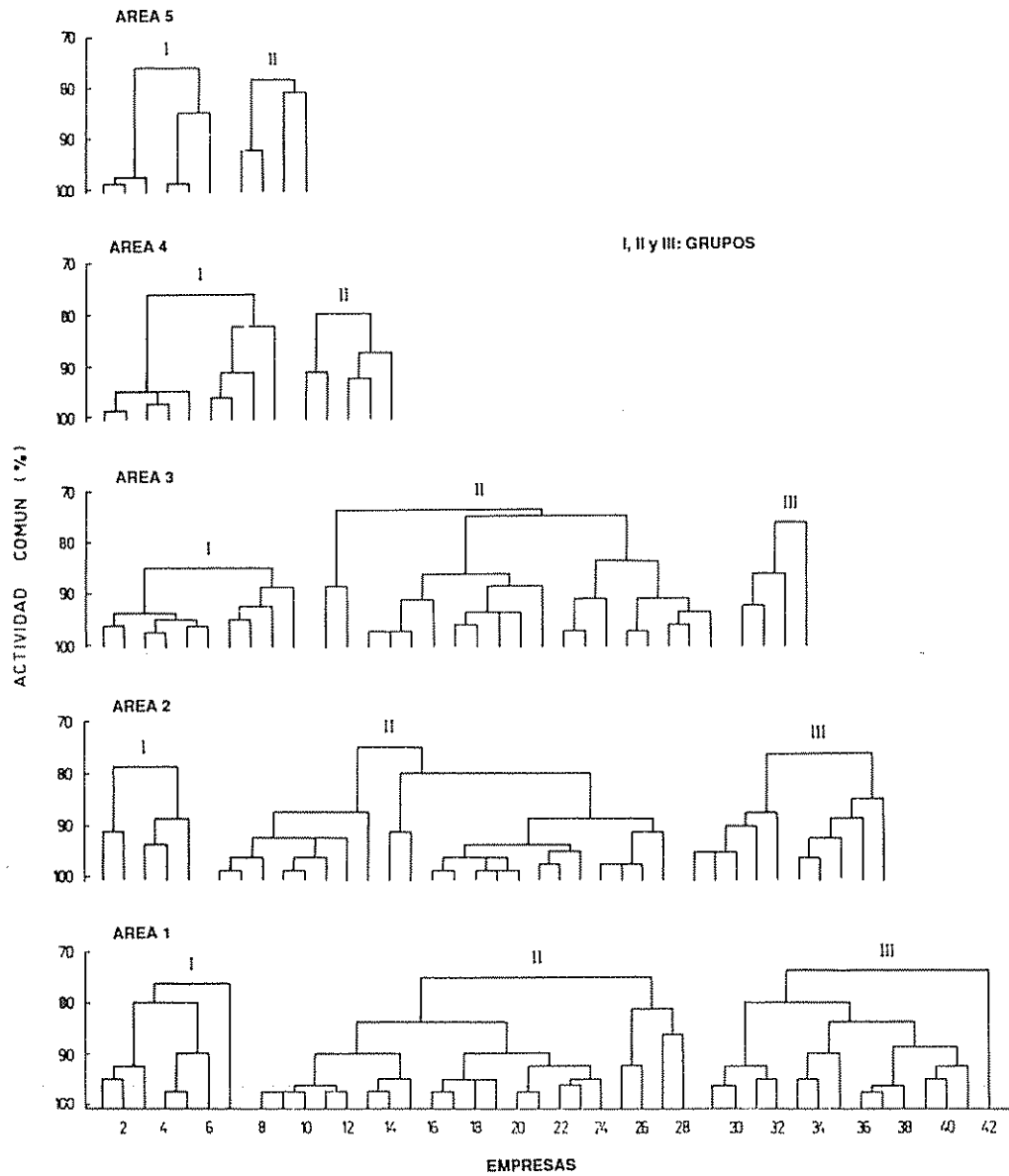


Fig. 2. Dendrogramas del agrupamiento de empresas en las áreas 1, 2, 3, 4 y 5.

Cuadro 4. Tipificación de los grupos obtenidos mediante el análisis de conglomerados en las áreas.

Áreas	Grupos	Características	Actividad común (%)	Cantidad	Predios (%)
1	I	Ganadero Sup. ganadera = 87% Equiv. vacunos = 98%	76	7	16
	II	Ganadero Sup. ganadera = 68% Equiv. vacunos = 97%	74	21	47
	III	Mixto Sup. ganadera = 52% Equiv. vacunos = 95%	72	14	31
2	I	Ganadero Sup. ganadera = 97% Equiv. vacunos = 89%	79	5	13
	II	Ganadero Sup. ganadera = 75% Equiv. vacunos = 96%	74	22	56
	III	Mixto Sup. ganadera = 48% Equiv. vacunos = 88%	76	10	26
3	I	Ganadero Sup. ganadera = 92% Equiv. vacunos = 94%	85	10	30
	II	Ganadero Sup. ganadera = 78% Equiv. vacunos = 86%	73	19	58
	III	Mixto Sup. ganadera = 41% Equiv. vacunos = 61%	75	4	12
4	I	Ganadero Sup. ganadera = 96% Equiv. vacunos = 94%	76	9	64
	II	Ganadero Sup. ganadera = 69% Equiv. vacunos = 92%	79	5	36
5	I	Ganadero Sup. ganadera = 91% Equiv. vacunos = 97%	76	6	55
	II	Mixto Sup. ganadera = 49% Equiv. vacunos = 93%	78	4	36

Ganadero = netamente ganadero + predominantemente ganadero
 Sup. ganadera + sup. agrícola = sup. total
 Equiv. vacunos + equiv. ovinos = equiv. totales

Los dendrogramas permitieron identificar los predios que integraron los grupos formados en cada área (Fig. 2). Los niveles extremos de actividad común fueron 72% y 85% para los grupos III del área 1 y los grupos I del área 3, respectivamente. Se observan varios grupos integrados por pocos predios, pero se puede deducir, a partir de los dendrogramas, que un mayor número de predios en cada grupo provoca necesariamente una reducción del número de grupos y del nivel de actividad común.

En el Cuadro 4, se describieron los sistemas "tipo" predominantes en cada área. Cada grupo quedó tipificado con la primera denominación -ganadero o mixto-que, junto a la superficie ganadera, fueron determinadas con el índice general. Los equivalentes vacunos se calcularon con el índice ganadero. En las áreas 1, 2 y 5 los porcentajes de los predios de cada grupo no sumaron 100%, debido a las exclusiones comentadas en la metodología. En todas las áreas los sistemas predominantes fueron ganaderos y en la núm. 4 exclusivamente ganaderos. Dentro del partido, los sistemas ganaderos ocuparon el 72.6% de la superficie total y el 80% de las empresas fueron ganaderas. Este claro predominio de

la ganadería es regional ya que esa actividad también se destacó en partidos vecinos (6, 7, 9).

Los porcentajes restantes correspondieron a los sistemas mixtos, entre los que cabe mencionar el grupo del área 1 por su magnitud y la incidencia que esa área tiene dentro del partido. La presencia de un grupo mixto en el área 5 responde, fundamentalmente, a las diferencias de precipitaciones existentes entre los dos sectores que componen esta área (Fig. 1). Así, los predios que conformaron dicho grupo están ubicados en el sector norte, cuyo registro pluviométrico medio supera al del sur, de acuerdo con la descripción climática de las áreas. Otros dos resultados son remarcables. El primero se refiere al predominio del ganado bovino en todos los grupos y que la participación de los ovinos fue considerable sólo en el grupo III del área 3. El otro, fue la buena distribución que en general tuvieron los predios de cada grupo en sus respectivas áreas, hecho que evidenció su homogeneidad agropecuaria.

La composición de los subsistemas del Cuadro 5 muestra que la cría pura fue intrascendente en el partido y que la tendencia general, en orden de importancia

Cuadro 5. Composición de los subsistemas ganaderos vacunos de los grupos en cada área (porcentaje de predios).

Áreas	Grupos	Subsistemas			
		C	CR	CRE	E
1	I	—	71.4	28.6	—
	II	—	47.6	23.8	28.6
	III	—	42.9	21.4	35.7
	x	—	50.0	23.8	26.2
2	I	25.0	25.0	—	50.0
	II	4.6	50.0	22.7	22.7
	III	—	60.0	—	40.0
	x	5.6	50.0	13.9	30.5
3	I	—	90.0	—	10.0
	II	5.3	78.9	—	15.8
	III	25.0	25.0	50.0	—
	x	6.1	75.7	6.1	12.1
4	I	—	66.7	22.2	11.1
	II	—	100.0	—	—
	x	—	78.6	14.3	7.1
5	I	—	50.0	16.7	33.3
	II	—	100.0	—	—
	x	—	70.0	10.0	20.0
x Total		3.0	60.7	14.8	21.5

¹ C= cría; CR= cría-recría; CRE= cría-recría-engorde; E= engorde

Cuadro 6. Tipificación de los estratos basada en el índice general (porcentaje de predios).

Estratos (ha)	NG	PG	M	PA	NA
150 - 350	25.0	45.5	18.2	11.3	-
351 - 600	36.4	36.4	18.2	9.0	-
601 - 1 000	32.1	28.6	35.7	3.6	-
1 001 - 2 500	63.2	26.3	10.5	-	-
x	39.2	35.0	19.6	6.2	-

¹NG= netamente ganadero; PG= predominantemente ganadero; M= mixto; PA= predominantemente agrícola; NA= netamente agrícola

decreciente, fue cría-recría (CR), engorde (E), cría-recría-engorde (CRE) y cría (C); de manera similar a lo determinado en estudios previos en partidos colindantes, ya mencionados. Si bien en todas las áreas predominó la CR, en las dos primeras la suma de la CRE y E representaron prácticamente la mitad de los predios. Como esas dos áreas son las de menores limitaciones clima-edáficas, es probable que dispongan de una oferta forrajera adecuada para cubrir los altos requerimientos nutritivos del engorde de vacunos. El análisis de los recursos forrajeros, que se realizará en la etapa siguiente de este proyecto, ratificará o no esta hipótesis.

Por último se tipificaron los estratos dentro de cada área pero, como no se registraron diferencias de importancia, se presenta el promedio del partido en el Cuadro 6. Se observa que en los estratos de menor superficie hubo, en general, mayor actividad agrícola que en los más grandes. Esto coincide por una parte, con lo hallado previamente en la región y responde a causales de índole económico-financieras, tradición productiva e infraestructura disponible. Además demuestra que la superficie del predio fue una variable que influyó en la definición del "tipo" de sistema agropecuario.

CONCLUSIONES

Los resultados ratificaron que la tipificación de sistemas, aun en áreas relativamente reducidas como un partido, debe realizarse sobre sectores edáfica y climáticamente homogéneos. La importancia de esta premisa quedó demostrada en este estudio, donde no sólo se detectaron varios "tipos" de sistemas según los suelos, sino que dos porciones de un mismo suelo, ubicadas en dos latitudes, con distintos regímenes pluviométricos, presentaron diferentes sistemas agropecuarios.

Las áreas resultaron también homogéneas desde el punto de vista agropecuario, porque los grupos determinados en cada una estuvieron conformados por predios bien distribuidos geográficamente.

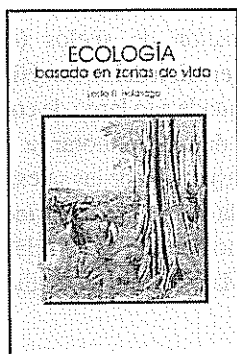
Una característica destacable del análisis de conglomerados es que ofrece la opción de elegir un número variable de grupos. Para un mismo universo la elección de muchos grupos implicaría que cada uno estaría integrado por pocos predios, que tendrán un alto porcentaje de actividades comunes entre sí, y viceversa.

LITERATURA CITADA

1. ARBELETCHÉ, P.; GOYENECHÉ, J.J. 1986. Tipificación de sistemas de producción: La experiencia en Uruguay. In *Tipificación y clasificación de sistemas de producción*. C.J. Molestina (Ed.). Montevideo, Uru., IICA. Diálogo 14:125-138.
2. BOCCHETTO, R.M. 1982. Marco conceptual y planteo operativo del Proyecto Sistemas de Producción e Incorporación de Tecnología en Áreas Agrícola-Ganaderas (SPITAG). Balcarce, Arg., EEA INTA. Boletín Técnico no. 88. Documento SPITAG. 19 p.
3. CASCARDO, A.; ACTIS, J.J. 1986. El enfoque de sistemas: Un estudio en la región pampeana argentina. In *Tipificación y clasificación de sistemas de producción*. C.J. Molestina (Ed.). Montevideo, Uru., IICA. Diálogo 14:17-33.
4. CRISCI, J.V.; LOPEZ ARMENGOL, A. 1983. Introducción a la teoría práctica de la taxonomía numérica. OEA Serie Biología. 115 p.
5. FUJITA, H.O. 1986. Sistemas de producción e incorporación de tecnología en áreas ganaderas (SPITAG): Plan I en la EEA de Balcarce, Arg. In *Tipificación y clasificación de sistemas de producción*. C.J. Molestina (Ed.). Montevideo, Uru., IICA. Diálogo 14:61-77.
6. GARGANO, A.O.; ADURIZ, M.A.; VILLEGAS, H.M.; PELLEJERO, O.; SALDUNGARAY, M.C. 1988. Sistemas de producción representativos del sur bonaerense y contribución a su mejoramiento. I. Clasificación de sistemas en el Partido de Villarino. *Revista Argentina de Producción Animal* 8(4):349-358.
7. GARGANO, A.O.; ADURIZ, M.A.; SALDUNGARAY, M.C. 1990a. Sistemas agropecuarios de Bahía Blanca. I. Clasificación y descripción mediante índices. *Revista Argentina de Producción Animal* 10(5):361-371.
8. GARGANO, A.O.; ADURIZ, M.A.; SALDUNGARAY, M.C. 1990b. Sistemas agropecuarios de Bahía Blanca. II. Clasificación por componentes principales y Cluster Analysis. *Revista Argentina de Producción Animal* 10:373-382.
9. GARGANO, A.O.; ADURIZ, M.A.; SALDUNGARAY, M.C. 1993a. Agrosistemas de Tornquist, Argentina. I. Tipificación mediante índices. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 1(1):39-50.

10. GARGANO, A.O.; ADURIZ, M.A.; SALDUNGARAY, M.C. 1993b. Agrosistemas de Tomquist, Argentina. I. Tipificación mediante análisis de conglomerados. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal 1(1):51-58.
11. GOMEZ RIERA, P. 1986. Clasificación de los sistemas actuales de producción (SAP) en el Valle de Uco, Mendoza, Argentina. In Tipificación y clasificación de sistemas de producción. C.J. Molestina (Ed.). Montevideo, Uru., IICA. Diálogo 14:167-173.
12. GONZALEZ, M.C.; SONVICO, V.A. 1982. Descripción y clasificación estadística de las empresas agropecuarias del área de influencia de la EEA INTA Bordenave (Argentina). Informe Técnico no. 2. 352 p.
13. INTA (INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA). 1989. Mapa de suelos de la Provincia de Buenos Aires. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Proyecto PNUD 85/019. 525 p.
14. KRUMPETER, H.C. 1984. Caracterización del sistema de producción ganadero-arrocero y propuesta de alternativas mejoradas. Concepción del Uruguay, Arg., EEA INTA. Boletín Técnico no. 6. Serie Miscelánea. Documento SPITAG no. 6. 30 p.
15. LIPUN, H.H.; BOREL, R. 1986. La investigación en componentes en el proceso de investigación en sistemas de producción. In Informe de la Reunión de Trabajo sobre Sistemas de Producción Animal (7.). H.H. Li Pun, N. Gutiérrez (Eds.). Col. p. 10-43.
16. MATTEUCCI, S.D.; COLMA, A. 1982. Metodología para el estudio de la vegetación. OEA Serie Biología. 164 p.
17. REVORA, H. 1979. Algunas consideraciones sobre sistemas de producción. INTA, Dirección Nacional. Circular Interna. 8 p.
18. SYLVESTER, G. 1978. Técnicas de muestreo. Bahía Blanca, Arg., Universidad Nacional del Sur, Departamento de Ciencias Exactas. 167 p.
19. TONINA, T.A.; GUEVARA, J.C.; PAEZ, J.A.; ESTEVEZ, O.R. 1983. Caracterización económica de los principales sistemas de producción ganadera en el árido mendocino. 25 p. (Mimeo)
20. VAZQUEZ PLATERO, R.E. 1981. Metodología de la investigación en sistemas de producción. In Reunión Anual de la Asociación de Economía Agraria (12.). Salta, Arg. 16 p. (Mimeo).

LIBRO RECOMENDADO



US\$8.00

Ecología Basada en Zonas de Vida L.R. Holdridge. 3a. reimpr. 1987. 216 p. ISBN 92-9039-131 6.

Esta obra, traducción de Life Zones Ecology (1966), presenta un sistema objetivo para clasificar los ecosistemas terrestres en unidades ecológicas básicas, denominadas zonas de vida, con base en los factores climáticos mayores: temperatura, precipitación y humedad. El texto está dirigido principalmente a ecólogos, dasónomos y otros profesionales y estudiosos de los recursos naturales.

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.

Inoculación y Riego con Aguas Residuales de *Casuarina* en Vivero¹

H. Ramírez Saad*, M. Valdés Ramírez**, R. Cruz Cisneros***

ABSTRACT

A nursery assay was carried out to evaluate the growth of *Casuarina equisetifolia*, inoculated with *Frankia* and/or ectomycorrhizal and VAM fungi. Initial irrigation was done with sewage water. During the first months of growth, waste-water induced dwarf seedlings; establishment of plant-microorganism symbiosis was also deficient (low percentage of nodulated plants, low nodule numbers and low degree of mycorrhization). After the rainy season, statistically significant differences were observed among treatments in terms of biomass; treated plants with *Frankia* + *Pisolithus tinctorius* increased by 350% in relation to the control plants; this treatment also greatly increased nodule biomass.

RESUMEN

Se montó un ensayo en vivero con el fin de evaluar el desarrollo de *Casuarina equisetifolia*, cuando es inoculada con *Frankia* y/o hongos endo- y ectomicorrízicos, regándola con aguas residuales desde el principio de su desarrollo. Este tipo de riego, durante los primeros meses de crecimiento, produjo enanismo en las plántulas, y estableció deficientemente las simbiosis planta-microorganismo, es decir, los porcentajes de plantas con nódulos fueron bajos, su número escaso y los niveles de micorrización pequeños. Después de la estación lluviosa se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, en términos de su biomasa, registrándose un incremento de 350% entre las plantas-testigo y las inoculadas con *Frankia* y *Pisolithus tinctorius*. Con este último tratamiento el tamaño de los nódulos también se incrementó considerablemente.

Palabras clave: *Casuarina equisetifolia*, *Frankia*, *Glomus intraradices*, *Pisolithus tinctorius*, ectomicorriza, micorriza vesículo-arbuscular, plantas actinorrízicas.

INTRODUCCION

Casuarina es un árbol capaz de fijar el nitrógeno atmosférico, gracias a su asociación con *Frankia*, bacteria filamentosa, Gram-positiva. Este árbol, por asociación con un actinomiceto, pertenece al llamado grupo de plantas actinorrízicas (24), nombre genérico para más de 200 especies vegetales, distribuidas en 24 géneros y 8 familias de plantas superiores.

La infección de la planta con la bacteria tiene lugar en las raíces y provoca la proliferación anormal de las células radiculares para formar, como las leguminosas, nodosidades o nódulos en cuyo interior ocurre la fijación del N molecular (23).

Las plantas actinorrízicas son utilizadas tradicionalmente en muchos países de diferentes maneras: como cultivo primario para madera y pulpa (*Casuarina* y *Alnus*); como plantas nodrizas (*Eleagnus*); como plantaciones en la recuperación de suelos (*Eleagnus*, *Purshia*), y para evitar la erosión del suelo (*Hippophäe*) (2). La *Casuarina* es plantada a lo largo de costas y desiertos, pues puede fijar dunas, aminorar la velocidad del viento y disminuir la aspersión de las sales; un ejemplo es la llamada "muralla verde de *Casuarina*", franja de 0.5 km a 5 km de ancho por 3000 km de largo, localizada en las costas del Mar de China Meridional (16).

Los árboles fijadores de N pueden desempeñar un papel importante en los países tropicales, no sólo como productores de madera y de leña sino también como

¹ Recibido para publicación el 25 de octubre de 1991. Este trabajo fue patrocinado por la *National Academy of Sciences/National Research Council* (EE UU.) mediante un donativo de la Agencia Internacional para el Desarrollo (AID). Los autores agradecen al Dr. Dwigth Baker de la Universidad de Yale, por haber proporcionado la cepa de *Frankia* Cc13, además de sus valiosos consejos para el manejo de estas actinobacterias; a la M.Sc. Susan Parent de *Premier Peat Moss Ltd.* (Canadá), por la generosa donación del inoculante de *G. intraradices*; a J.M. Matus y a M. Quintos Escalante, por su asistencia en laboratorio, y al personal del vivero Los Remedios, por su apoyo en el mantenimiento de las plantas.

* Depto. de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, Méx.

** Depto. de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Apartado Postal 63-246, México, D.F. 02800, Méx.

*** Depto. de Botánica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, D.F., Méx.

componentes mayores de la producción agrícola por las siguientes razones:

- Son plantas capaces de crecer en suelos muy pobres o totalmente desprovistos de N; es decir, degradados e inutilizables para la agricultura (6).
- Al fijar grandes cantidades de N pueden, en buena medida, regenerar suelos degradados mediante su aporte de materia orgánica, permitiendo la reinstalación de cultivos anuales en rotación o de cultivos intercalares en sistemas agroforestales (6, 16).
- Este grupo de plantas, también, es capaz de asociarse con hongos micorrícicos; la presencia de estos microorganismos en sus raíces les confiere una mejor nutrición mineral, en virtud de su mayor eficiencia en la absorción y transporte de nutrimentos del suelo (4, 5, 20).

Se ha comprobado que, en muchos viveros mexicanos donde se produce *C. equisetifolia* (L.), la práctica de inoculación con *Frankia* en cualquiera de sus variantes es desconocida, por lo que, cuando las plantas son transportadas al lugar de reforestación, llevan sus raíces desprovistas de nódulos y una vez trasplantadas no están en posibilidad de adquirir el simbiote, ya sea por la edad y el desarrollo de la planta misma, o porque los suelos carecen de cepas nativas del actinomiceto capaces de infectar espontáneamente las plantas.

Otro problema importante, presente en muchos viveros del país, es el abastecimiento de agua para riego, el cual se hace con aguas residuales. Sólo en el Valle de México existen 12 plantas para tratamiento de este tipo de aguas, cuyo destino principal es el riego de jardines públicos y viveros. El tratamiento consiste básicamente en la eliminación de sólidos y, eventualmente, del color.

En los viveros de algunos estados, se riega incluso con aguas residuales crudas, aunque en general se trata de evitar este tipo de riego para las plantas jóvenes, ya que en ocasiones no existe otra opción. Este problema seguramente se acentuará en un futuro cercano, puesto que la situación actual del suministro general de agua es muy precaria.

Se decidió hacer un ensayo en vivero, con el propósito de producir plantas de *C. equisetifolia* inoculadas, tanto con *Frankia* como con hongos micorrizógenos, sometiéndolas desde un principio a riego con aguas residuales, tal como se procede actualmente en

algunos viveros y como, probablemente, se procederá en muchos viveros del país.

MATERIALES Y METODOS

Fase de laboratorio

Preparación de inoculantes

Frankia CcI3. Se cultivó en medio DPM líquido (1), en sistema estacionario a 28 °C, propagándose durante cuatro meses mediante pases sucesivos de 10 d cada uno; la cosecha se hizo por centrifugación a 500 rpm y lavado con solución salina estéril (0.85%). El paquete celular obtenido se pasó por un homogeneizador y se diluyó 1:100 con solución salina estéril. Esta suspensión se dividió en cuatro fracciones iguales, las cuales se aplicaron a las plantas de los tratamientos respectivos, previa dilución.

G. intraradices. Se utilizó un inoculante, que contiene raicillas de poro infectadas con el hongo en una base de turba neutralizada.

P. tinctorius. Se cultivo durante tres meses en frascos conserveros de 1 l con solución nutritiva de Melin y Norkrans, en soporte de vermiculita-turba (15). Se obtuvieron 700 g en base húmeda de soporte que contenía micelio del hongo ectomicorrícico, dividiéndolo posteriormente en dos fracciones para los tratamientos respectivos.

Ensayo en vivero

Ubicación

El vivero Los Remedios pertenece al Programa de Desarrollo Rural del Estado de México; se encuentra localizado en el Municipio de San Juan Totoltepec, (19° 29'N, 99° 16'O), al NO de la zona conurbada de la ciudad de México, con una precipitación media anual de 790 mm y una temperatura promedio de 15.6 °C, que corresponde a un clima templado subhúmedo (10).

Análisis físico-químico del suelo

El suelo que se utiliza en el vivero para llenar los envases, es recolectado en un bosque de pino-oyamel, el cual se mezcla en partes iguales con la lama de río

(aluvión) y resulta un suelo con textura de arena migajosa y pH de 5.6 (7); con 1.59 ppm de P asimilable considerado como muy bajo (11) y 9% de materia orgánica, que le confiere la característica de extremadamente rico (11).

Tratamiento e inoculación

Se recolectó semilla de *C. equisetifolia* proveniente de un solo árbol, que fue sembrada en un semillero previamente fumigado con Basamide (BASF Mexicana) a razón de 15 g/m², para prevenir una infección temprana por hongos micorrizógenos nativos o patógenos.

Las plántulas de 70 d fueron trasplantadas a envases de vivero, llenos de suelo fumigado previamente con Basamide (75 g/m²). Se establecieron los siguientes tratamientos:

- 1) *C. equisetifolia* sin inocular (testigo)
- 2) *C. equisetifolia* + *Frankia* CcI3
- 3) *C. equisetifolia* + *G. intraradices*
- 4) *C. equisetifolia* + *P. tinctorius*
- 5) *C. equisetifolia* + *Frankia* CcI3 + *G. intraradices*
- 6) *C. equisetifolia* + *Frankia* CcI3 + *P. tinctorius*.

Cada tratamiento constó de 200 plantas, divididas en cuatro grupos repartidos por distribución de bloques al azar. La inoculación con *Frankia* se hizo en el momento del trasplante del almácigo al envase de vivero, diluyendo la fracción correspondiente de la suspensión en una regadera manual con 10 l de agua, y regando lo más homogéneamente posible las 200 plantas de cada tratamiento.

G. intraradices se inoculó tomando con una cucharilla 0.25 g del inoculante, depositándolo en el hoyo en que se transplantó la plántula.

De igual forma se aplicaron 1.5 g aproximadamente del inoculante que contenía el hongo ectomicorrizógeno *P. tinctorius*.

Riego

Todos los bloques de plantas recibieron riego con aguas residuales por inundación del terreno, una vez a

la semana durante los primeros ocho meses, hasta la llegada de la época de lluvias, en la que recibieron agua según la precipitación natural.

Evaluación

Transcurridos 10 meses del trasplante e inoculación se efectuó la primera evaluación con 15 plantas de cada tratamiento. La segunda se hizo seis meses después, pasada la estación de lluvias.

Las variables consideradas fueron la altura de la parte aérea y el diámetro del tallo a la altura del cuello, como medias necesarias para calcular el volumen, mediante la fórmula D^2H (21), peso seco de la parte aérea, número de nódulos por planta, porcentaje de plantas noduladas y porcentaje de micorrización VA; éste último se determinó mediante el montaje de raicillas en portaobjetos, teñidas previamente según Phillips y Hayman (18).

RESULTADOS

Toda la plantación mostró escaso crecimiento desde el trasplante e inoculación hasta iniciado el siguiente período de lluvias —fecha de la primera evaluación.

Seis meses después, en la segunda evaluación, se hizo patente la respuesta de las plantas en su desarrollo. En la primera, las variables volumen y peso seco, consideradas como indicadoras del crecimiento, no mostraron diferencias estadísticas significativas. A partir del final del período de lluvias, y en el momento de la segunda evaluación, las diferencias en el crecimiento fueron notables, que varió en función de los tratamientos.

Nodulación

En la primera evaluación se observó un porcentaje bajo de plantas con nódulos, tanto en los tratamientos inoculados sólo con *Frankia*, como con la bacteria + *G. intraradices*; pero cuando se inoculó junto con *P. tinctorius*, el número de plantas noduladas llegó a 93%, aunque en este mismo período los valores promedio del número de nódulos por planta fueron bajos, según se aprecia en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Valores de nodulación y micorrización VA de *C. equisetifolia* cultivada en vivero, regadas al inicio con aguas negras (1a evaluación) y con agua de lluvia (2a evaluación).

	1a Evaluación			2a Evaluación		
	Plantas noduladas (%)	Nódulos/planta	Micorrización (%)	Plantas noduladas (%)	Nódulos/plantas	Micorrización ((%)
Testigo	0	0	4.28	53	0.73	6.83
<i>Frankia</i>	40	0.9	7.59	100	8.8	4.87
<i>G. intraradice</i>	0	0	22.4	0	0	12.75
<i>P. tinctorius</i>	0	0	43.2	13	0.13	10.55
<i>Frankia</i> + <i>G. intraradices</i>	40	0.6	6.5	100	20.53	19.25
<i>Frankia</i> + <i>P. tinctorius</i>	93.3	4.2	6.3	100	28.93	18.55

Los valores son promedio de 15 plantas muestreadas

Al final del experimento, se registraron aumentos notables tanto en la proporción de plantas noduladas, que fue de 100% en todos los tratamientos inoculados con *Frankia*, como en el número promedio de nódulos por planta, el cual sufrió incrementos respecto de la primera evaluación; en este punto destacaron como valores más altos que correspondieron a las inoculaciones dobles, *Frankia* + *G. intraradices* y *Frankia* + *P. tinctorius*, que comparados con el tratamiento inoculado únicamente con *Frankia* mostraron valores, en el número promedio de nódulos por planta, incrementados en 2.3 y 3.3 veces, respectivamente (Cuadro 1).

Es importante señalar que el tamaño de los nódulos en las inoculaciones dobles también fue mayor que cuando se inoculó solo con *Frankia*; destacando entre ellos los nódulos correspondientes al tratamiento *Frankia* + *P. tinctorius* cuyo tamaño fue de 5 veces a 10 veces mayor que los nódulos de las plantas inoculadas únicamente con *Frankia* (datos no consignados).

Micorrización

Todas las plantas resultaron micorrizadas por hongos VA, aun aquellas con tratamientos no inoculados, aunque la proporción de raicillas infectadas mostró, en general, valores bajos (Cuadro 1).

Volumen

Se registraron incrementos importantes en la segunda evaluación; destacaron los tratamientos inoculados con *Frankia* sola y en combinación con *P. tinctorius*, cuyos incrementos fueron de 515% y 350% respectivamente, de acuerdo con la primera evaluación; mientras que los tratamientos testigo y *P. tinctorius* solo, arrojaron los incrementos más bajos. Las diferencias significativas estadísticamente se dieron entre las plantas testigo y las inoculadas con *Frankia* + *P. tinctorius* (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valores de crecimiento de *C. equisetifolia* cultivada en vivero, regada al inicio con aguas negras (1ª evaluación) y con agua de lluvia (2ª evaluación).

Tratamiento	1ª Evaluación		2ª Evaluación	
	Peso seco (g)	Volumen (cm ³)	Peso seco (g)	Volumen (cm ³)
Testigo	3.05 abc	15.54 ab	7.90 a	29.99 a
<i>Frankia</i>	1.72 a	8.90	13.47 ab	54.71 abc
<i>G. intraradice</i>	3.51 cd	14.17 ab	12.26 ab	50.37 abc
<i>P. tinctorius</i>	5.38 d	22.76 b	9.33 ab	39.91 ab
<i>Frankia</i> + <i>G. intraradices</i>	3.25 bcd	17.10 ab	12.95	59.11 bc
<i>Frankia</i> + <i>P. tinctorius</i>	3.46	10.04 ab	15.73 b	72.61 c

Los valores son el promedio de 15 plantas. En cada columna los valores con la misma letra, no presentan diferencia estadística significativa ($P = 0.05$), según la prueba de Scheffé.

Peso seco

El comportamiento fue similar al de las otras variables, es decir en la primera evaluación el peso seco presentó valores bajos, que se incrementaron notablemente para la segunda evaluación, sobre todo en el caso de las plantas inoculadas solamente con *Frankia*, cuyo aumento fue del 683 por ciento.

Al final del ensayo, es decir, al cabo de 16 meses, los valores de crecimiento de las plantas expresados en peso seco mostraron diferencias estadísticas significativas ($P = 0.05$) entre los tratamientos; de ellas destacaron las encontradas entre las plantas testigo y las inoculadas con *Frankia* + *P. tinctorius*. (Cuadro 2).

DISCUSION

El objetivo primordial de este estudio fue evaluar el desarrollo de *C. equisetifolia* inoculada con diferentes microorganismos simbioses (*Frankia*) y hongos ecto- y endomicorrícicos, y regada con aguas residuales desde el inicio de su crecimiento.

Los ensayos al inocular *Casuarina* en vivero, realizados anteriormente en otros países, se han efectuado con riego de agua corriente (5). Los resultados obtenidos permiten indicar qué resultados se pueden esperar de la producción de plantas en muchos viveros, en donde se establecerá el riego con aguas residuales y en otros donde ya se ha establecido.

Los efectos sugieren que este tipo de riego sobre las plántulas es negativo, pues les indujo enanismo en el inicio del desarrollo, fenómeno que no fue determinado en ensayos previos realizados con variedades de *Casuarina* de mayor edad y riego inicial con agua corriente (19). Estas observaciones fueron previamente señaladas por los trabajadores del vivero, no sólo en *Casuarina*, sino también para otras plantas producidas en el mismo lugar. Otro hecho notable fue que las asociaciones microbianas no se establecieron plenamente durante los primeros meses del desarrollo de la planta, sino después de fijada la estación lluviosa.

Lo anterior podría explicarse si se considera que la precipitación pluvial provoca un lavado de sales, metales pesados y materiales orgánicos coloidales. Estos componentes, aislada o conjuntamente, están presentes en las aguas residuales (17, 22), afectando de alguna manera el desarrollo inicial de las plántulas y el estable-

cimiento de las simbiosis. También, un exceso de material orgánico podría conducir a una alta concentración de CO_2 en el suelo e inhibir el desarrollo radicular (14). Al respecto habría que considerar tanto el exceso de materia orgánica contenida en la mezcla de suelo en el envase del vivero, como una cantidad variable, pero siempre presente en el agua de riego.

Es pertinente señalar que cualquiera sea el factor o los factores inhibidores, el grado de afectación en esta primera etapa del crecimiento hacia la asociación tripartita *Casuarina* - *Frankia* - *Pisolithus* es bajo, ya que la proporción de plantas noduladas cuando se inocula con ambos microorganismos es de 93%, aunque el número de nódulos por planta es sólo de cuatro; este es el valor más alto obtenido en las condiciones adversas de la primera evaluación (Cuadro 1).

En la segunda evaluación, se observó que algunas plantas de tratamientos no inoculados formaron nódulos, debido, probablemente, al efecto del tipo de riego por inundación de terreno y a los desniveles del mismo. Se incrementó también la nodulación y micorrización de las plantas inoculadas. La nodulación creció en mayor proporción cuando se inocularon con *Frankia* y un hongo micorrícico juntos. El mayor aumento, no sólo en el número de nódulos sino también en su tamaño, lo dio la inoculación con *P. tinctorius*. Esto podría explicarse por el efecto combinado de una mejor nutrición mineral proporcionada por el micelio extensivo exterior del hongo micorrícico (3, 5) y por la producción fúngica de fitohormonas (8). Estos atributos permitirían considerar a *P. tinctorius*, como microorganismo de los llamados "helpers" (9, 12, 13).

El porcentaje de micorrización VA se incrementó especialmente en las plantas tratadas con inoculaciones dobles, lo que podría significar un estímulo de la bacteria hacia los hongos micorrizógenos. Este efecto ha sido observado por Barea *et al.* (3) en leguminosas inoculadas con *Rhizobium* y hongos MVA.

Finalmente se puede observar que, en las condiciones particulares de este ensayo, la producción primaria de las plantas, medida como peso seco o volumen, registró incrementos notables en todos los tratamientos, con respecto de las plantas-testigo no inoculadas, que es la forma habitual de producción en el vivero. Sin embargo se debe destacar que los aumentos estadísticamente significativos ($P = 0.05$) se obtuvieron al inocular *C. equisetifolia* simultáneamente con *Frankia* + *P. tinctorius*.

LITERATURA CITADA

1. BAKER, D.D.; O. KEEFE, D. 1984. A modified sucrose fractionation procedure for isolation of *Frankia* from actinorhizal root nodules and soil samples. *Plant and Soil* (The Netherlands) 78:23-28.
2. BAKER, D.D. 1986. Actinorhizal trees useful in cool to cold regions. *Nitrogen Fixing Trees Highlights* (EE.UU.) 86/03.
3. BAREA, J.M.; AZCON - AGUILAR, C.; AZCON, R. 1987. Vesicular - arbuscular mycorrhiza improve both symbiotic N₂ fixation and N uptake from soil as assessed with a ¹⁵N technique under field conditions. *New Phytologist* (U.K.) 106:717-725.
4. DIAGME, O.; LE TACON, F. 1982. Interactions between fertilization, mycorrhiza formation and nodulation in *Alnus incana*. *Coloques de l'INRA* (France) 13:199-206.
5. DIEM, H.G.; GAUTHIER, D. 1982. Effect de l'infection endomycorhizienne (*Glomus mossae*) sur la nodulation et la croissance de *Casuarina equisetifolia*. *Comptes Rendus de l'Académie de Sciences de Paris* (France) 249(3):215-218.
6. DOMMERGES, Y. 1987. Comment accroître la fixation symbiotique de l'azote par les arbres en milieu tropical? In *Séminaires: Les arbres fixateurs d'azote et l'amélioration biologique de la fertilité du sol*. Actes France, ORSTOM p. 18-32.
7. FOTH, H.D.; JACOBS, H.S.; WITHEE, L.V. 1973. *Laboratory manual for introductory soil science*. 3th Ed. USA, Iowa, WCB.
8. FRANKENBERGER JUNIOR, W.T.; POTH, M. 1987. Biosynthesis of indole-3-acetic acid by the pine ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. *Applied and Environmental Microbiology* (USA) 53:2908-2913.
9. GARBAYE, J.; BOWEN, G.D. 1987. Effect of different microflora on the success of ectomycorrhizal inoculation of *Pinus radiata*. *Canadian Journal of Forest Research* (Can.) 17:941-943.
10. GARCIA, E. 1988. Modificación al Sistema de Clasificación climática de Köppen para adaptarlo a las condiciones de la República mexicana. Enriquetta García (Ed.). México, D.F. 232 p.
11. JACKSON, M.L. 1982. Análisis químico de suelos. Barcelona, Omega. p. 67-71, 203-213, 300-304.
12. KNOWLTON, S.; BERRY, A.; TORREY, J.G. 1979. The role of rhizosphere microorganisms in nodule formation in *Alnus rubra* Bong. In *Symbiotic Nitrogen fixation in the management of temperate forest*. J.C. Gordon, C.T. Wheeler, D.A. Perry (Eds.) Corvallis, Oregon, USA. Oregon State University. p. 479-480.
13. KNOWLTON, S.; BERRY, A.; TORREY, J.G. 1990. Evidence that associated soil bacteria may influence root hair infection of actinorhizal plants by *Frankia*. *Canadian Journal of Microbiology* (Can.) 26:971-977.
14. LEVITT, J. 1980. *Responses of plants to environmental stress II*. 2nd Ed., Orlando, USA, Academic Press Inc. p. 225-226.
15. MARX, D.H.; KENNEDY, D.S. 1982. Production of ectomycorrhizal fungus inoculum. In *Methods and principles of mycorrhizal research*. N.C. Shennik (Ed.). St. Paul, Minn., USA. The American Phytopathological Society. p. 131-147.
16. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. 1984. *Casuarinas: Nitrogen-fixing trees for adverse sites*. National Academy Press. Washington, D.C. 118 p.
17. NIELSEN, J.S.; HRUDEY, S.E. 1983. Metal loadings and removal at a municipal activated sludge plant. *Water Research* (USA) 17:1041-1052.
18. PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. 1970. Improved procedure for cleaning tree roots and staining parasitic and vesicular - arbuscular mycorrhizae fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* (U.K.) 55:158-161.
19. RAMIREZ-SAAD, H.; VALDES, M. 1989. Sewage watering at the nursery improves growth and nodulation of Casuarinas. *Nitrogen Fixing Tree Research Reports* (USA) 7:87-88.
20. ROSE, S.L.; YOUNGBERG, C.T. 1980. Tripartite associations in snowbrush (*Ceanothus velutinus*): Effect of vesicular - arbuscular mycorrhizae on growth, nodulation, and nitrogen fixation. *Canadian Journal of Botany* 59:34-39.
21. RUEHLI, E., J.L.; MARX, D.H.; MUSE, H.D. 1984. Calculated nondestructive indices of growth response for young pine seedlings. *Forest Science* (USA) 30:469-474.
22. SMOCK, L.A.; KUENZLER, F.J. 1983. Seasonal changes in the forms and species of iron and Mn in a seasonally-inundated floodplain swamp. *Water Research* (USA) 17:1287-1294.
23. TORREY, J.G. 1978. Nitrogen fixation by actinomycete-nodulated angiosperms. *BioScience* (USA) 28:585-592.
24. TORREY, J.G.; THEPKEMA, J.D. 1979. Symbiotic nitrogen fixation in actinomycete-nodulated plants. *Botanical Gazette* (USA) Suppl. 140:i-ii.

Effect of Alternative Methods of Advancing Early Generation Populations of Common Bean in the Tropics¹

J.A. Gutiérrez*, S.P. Singh*

ABSTRACT

Effect of single pod bulk (SPB) and single seed bulk (SSB) methods of advancing early generations (F_2 to F_5) was studied in three populations (TR 4678, TR 4683, and TR 4685) of common bean. Twelve high-yielding F_2 -derived F_4 lines from each population and method of generation advance, along with their respective bulks, 20 parents involved in three populations, and two checks were evaluated for three years. Also, single plant harvests were made in the F_2 of TR 4683 and its SPB of the F_3 , F_4 , and F_5 . Fourteen high-yielding F_4 lines derived from each of the four generations, along with the SPB, six parents, and a check cultivar, were tested separately for three years. In both experiments, data were recorded for seed yield (in kg/ha and adjusted to 14% moisture by weight). Considerable increases and decreases in population size in successive generations of inbreeding in the SPB and SSB, respectively, were observed. Mean yields of SPB and lines derived from it were significantly ($P < 0.05$) higher than those of SSB. No significant ($p > 0.05$) differences were found for seed yield among lines derived from the F_2 , F_3 , F_4 , and F_5 of the intraracial population TR 4683, all of whose parents were small-seeded, a characteristic of the race Mesoamerica.

INTRODUCTION

The amount of genetic variance that could be generated by hybridization in populations of an autogamous crop such as common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) may depend largely upon genetic distance among parents (i.e., crosses between versus crosses within different races), number of parents involved in each population, type of crosses, number of genes controlling inheritance of a trait, and population size.

Also, evaluation, selection, and fixation of desirable traits within hybrid populations could be carried out simultaneously, as is often the case in the pedigree me-

RESUMEN

Se estudió la eficiencia de los métodos masal de una vaina (MUV) y masal de una semilla (MUS) por planta, para adelantar generaciones tempranas (F_2 a F_5) en tres poblaciones, TR 4678, TR 4683 y TR 4685, de frijol común. Las doce líneas F_4 derivadas de F_2 , con mayor rendimiento en cada población y método, sus respectivos masales y 20 padres involucrados en los tres cruces se evaluaron durante tres años. Adicionalmente se realizaron selecciones individuales en las generaciones F_2 , F_3 , F_4 y F_5 de la población TR 4683. Las catorce líneas F_4 con mayor rendimiento de cada una de las cuatro generaciones, junto con el masal de una de sus vainas adelantado sin selección, los seis padres del cruzamiento y un testigo, se valoraron aparte durante tres años. En ambos experimentos, se midió el rendimiento (14% de humedad en kilogramos por hectárea). El tamaño de la población en las sucesivas generaciones de avance se incrementó y disminuyó notablemente en los MUV y MUS, respectivamente. El rendimiento promedio de MUV y de sus líneas derivadas fue significativamente superior ($P < 0.05$) al de MUS y sus líneas. No hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) en el rendimiento de las líneas derivadas de F_2 , F_3 , F_4 , y F_5 del cruzamiento intraracial TR 4683, en el cual todos sus padres son de semilla pequeña, característica de la raza Mesoamérica.

thod beginning from the F_2 . On the other hand, character fixation could be sought first, followed by evaluation and selection in advanced generations, as in the bulk and single seed descent methods of breeding. In addition, modifications of these methods are adopted, depending upon the number of populations to be managed, number of traits to be selected, nature of inheritance of characters, facilities available for screening, relative time and costs involved, and collaboration among scientists from different disciplines and institutions.

Intergenotypic competition occurs in genotypic or varietal mixtures of common bean. It is affected by seed size, growth habit, planting density, and interactions with environments (1, 2, 3, 5). Therefore, when bulk breeding, the method of forming a bulk for advancing generations may play an important role in determining the frequency and type of genotypes surviving into the advanced generations. One possible method of forming a bulk could be harvesting the entire plot, and then taking a sample of seed for growing the next generation.

¹ Received for publication 12 July, 1992.

We thank Aracelly Fémández for secretarial assistance, Bill Hardy for editing, and Henry Terán for data analysis.

* Bean Program, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), AA 6713, Cali, Col.

However, this method is prone to loss of genotypes because of sampling errors. To remedy this situation, breeders, when not interested in natural selection, try to assure a uniform contribution from each plant harvested in the population by taking a sample either by weight, volume, or number of seeds to form the bulk to be used for growing the subsequent generation. The single pod bulk (SPB) and single seed bulk (SSB) methods are used for advancing generations in common bean. Because the relative effect of the two methods on population changes and yield performance of surviving genotypes was not known, this was the objective of our investigation. Also, comparative performance of the F_2 -, F_3 -, F_4 -, and F_5 - derived lines was studied in an intraracial population, all of whose parents possessed characteristics of the small-seeded (< 25 g/100-seed weight) race Mesoamerica.

MATERIALS AND METHODS

Three populations, TR 4678 = [(A 156 x BAT 271) x (BAT 85 x A 114)] x (A 322 x XAN 6)] x [(XAN 93 x (NEP Bayo 22 x A 21)], TR 4683 = (BAT 477 x Carioca) x [(A 170 x XAN 93) x (A 25 x BAT 332)], and TR 4685 = [A 445 x (A 249 x BAT 1297)] x [Catu x XAN 112) x (A 25 x Negro Zacatecas)], were utilized in this study. For development of these populations, approximately 30 F_1 plants were used at each step of single, double, three-way, and multiple cross combinations. All parents of TR 4683 possessed characteristics of the small-seeded race Mesoamerica (8). Of nine parents of TR 4678, six resembled Mesoamerica in characteristics, one resembled the race Jalisco, and two resembled the race Durango.

Population TR 4685 contained five parents possessing characteristics of race Mesoamerica and two parents having those of the race Durango. The F_2 seed (approximately 1000/population) of each population was sown in plots four rows, 5 m long, with three replications at CIAT-Quilichao, Colombia (very fine, kaolinitic, isohyperthermic Plinthic Kandiudox soil; 990 m elevation, with mean growing temperature of 24°C). The spacing between rows was 60 cm, and 85 seeds were sown in each row. At harvest, two kinds of bulks were made: the SPB, by taking a single pod, and the SSB, by harvesting a single seed from each plant without selection. The respective bulks from each population were kept separate. The SPB and SSB were advanced in F_3 and F_4 by using similar procedures.

The F_5 generation was moved to CIAT-Palmira, Colombia (fine-silty, mixed, isohyperthermic aquic Hapludoll soil; 1000 m elevation, with mean growing temperature of 24°C) because of increasing problems with root rots at CIAT-Quilichao. After forming SPB and SSB to grow the F_6 , approximately 200 single plants were taken randomly in each SPB, and all of the SSB were harvested. While on the one hand SPB and SSB were advanced until F_8 as in the previous generations, the single plants harvested in the F_5 were grown in the plant-to-progeny rows in F_6 . Each plot consisted of a single row, 3 m long, without replication. Parents were sown every 20th plot.

At maturity, each plot was harvested (leaving 25 cm head borders on either end). Based on seed yield, an average of 50 F_6 lines from each of the SPB and all lines from each of the SSB were saved. In the F_7 , the SSB and SPB lines from each population were evaluated in yield trials. Each plot consisted of four rows, 3 m long, with two replications. After harvest and data analysis, the 12 highest-yielding lines were saved from each SSB and SPB for comparative yield trials. Seventy-two selected lines, six bulks, 20 parents, and two check cultivars were evaluated in a 10 x 10 partially balanced lattice design with three replications in 1989, 1990, and 1992 at CIAT-Palmira. Each plot had four rows, 5 m (in 1989) and 7 m (in 1990 and 1991) long. The spacing between rows was 60 cm, and 25 seeds/m were sown. The two central rows, leaving head borders of 50 cm on either end, were harvested for seed yield (in kg/ha and adjusted to 14% moisture by weight).

Additionally, in the SPB of population TR 4683, an average of 200 random single plant harvests were made in each F_2 , F_3 , F_4 , and F_5 for sowing in the plant-to-progeny rows in the next generations. This was followed by seed increase and replicated yield trials in subsequent generations. From the progeny tests to eventual identification of the 14 highest yielding lines derived from each generation, seed yield was used as the principal selection criterion. No selection was made for seed characteristics, maturity, and/or growth habit. Thus, 14 lines derived from each of the F_2 , F_3 , F_4 , and F_5 generations, one SPB, six parents, and one check cultivar were evaluated in an 8 x 8 lattice design with three replications at CIAT-Palmira in 1989, 1990, and 1991 plot size, agronomic management and data recording were similar to those of the previous experiment, which was always grown in an adjacent plot. Data from both experiments were subjected to standard statistical analysis using the GENSTAT statistical package

(Numerical Algorithms Group, Oxford, U.K.), whereby populations and lines were considered fixed effects and years random effects.

RESULTS AND DISCUSSION

Differences among parents for days to maturity and seed yield were significant. Line XAN 6 was the earliest to mature (70 days) and lowest-yielding (1313 kg/ha). On the contrary, A 445 was the highest-yielding (2621 kg/ha). Line A 156 had the most days (81) to maturity.

There was an increase in population size in successive generations of SPB (Table 1). Similarly, in each

generation of SSB, there was a considerable reduction such that in F_2 , 45, 48, and 24 plants were left in the populations TR 4678, TR 4683, and TR 4685, respectively. Because five seeds are borne in each pod on the average, theoretically the population size should have increased proportionately in each generation of selfing of SPB. Thus, there also was considerable loss of population. Root rots accentuated by low soil fertility and continuous cropping with common bean at CIAT-Quilichao could be the principal cause for reduction in population size. However, angular leaf spot caused by *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr., common bacterial blight caused by *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye, and intergenotypic competition for nutrients, moisture, and sunlight could have played a role among other factors favoring natural selection.

Table 1. Changes in population size of single seed bulk (SSB) and single pod bulk (SPB) methods of advancing segregating generations of common bean grown in Colombia.

Population		Generation					
		F_2	F_3	F_4	F_5	F_6	F_7
TR	4678						
	SSB	848	394	161	45	29	28
TR	4683						
	SSB	952	420	233	48	38	24
TR	4685						
	SSB	808	220	86	24	17	13
	SPB	848	1 576	1 026	2 162	5 232	6 468
	SPB	952	NR	1 905	3 012	5 470	6 292
	SPB	808	986	173*	869	2 587	3 761

* Severe population loss was caused by waterlogging three weeks after sowing
NR = not recorded

Because differences in mean yields among three populations were nonsignificant and yields of bulks and selected lines from their SPB and SSB followed similar trends (data not shown), results were averaged over populations for simplifications (Table 2). Selection for seed yield was effective, based on mean of selected lines and mean of parents in SPB, but not in SSB (Table 2). Because the SSB, as well as lines derived from SSB, yielded relatively lower than the corresponding SPB and its derived lines, a loss of relatively more desirable genotypes in the SSB was suggested. This result was further verified by comparing the performance of the highest-yielding lines derived from SPB and SSB. As there was severe population loss in all generations of SSB advance, it is not clear whether SSB was solely

responsible for losses of otherwise high-yielding genotypes, and results may thus be biased in favor of SPB.

Nonetheless, bean breeders in the tropics usually grow populations in the field and do not use glasshouses or take special precautions. Therefore, the use of SSB is not advisable for management of common bean populations for field-grown nurseries in tropical environments where soil-borne diseases and other factors affecting plant stands and productivity cannot be controlled. Instead, breeders using SSB for generation advance should use sterilized soils in a glasshouse and minimize intergenotypic competition in order to avoid stand and productivity loss, and maintain large population size throughout the early segregating generations and progress toward homozygosity.

Cuadro 2. Comparison of 12 high-yielding F_5 - derived F_4 lines from single pod bulk (SPB) and single seed bulk (SSB) pooled over three populations of common bean evaluated at CIAT-Palmira, Colombia, in 1989, 1990, and 1991.

Origen	Seed yield (kg/ha)		
	Minimum	Maximum	Mean
Selected lines from SPB	1 833	2 625	2 225
Selected lines from SSB	1 727	2 452	2 140
Unselected SPB	2 062	2 318	2 162
Unselected SSB	2 016	2 070	2 039
Parents	1 313	2 621	2 092
LSD (0.05)			
Selected lines SPB vs SSB	355	355	41
Selected lines SPB or SSB vs unselected bulks			105
Selected lines SPB or SSB vs. parents			49

All parents involved in population TR 4683 possessed characteristics of the small-seeded race Mesoamerica. Most members of the race Mesoamerica are known to possess zero or negative general combining ability (GCA) for seed yield (4). This suggested that very little or no useful additive genetic variance could be generated by hybridization among parents within this group of germplasm. Unfortunately, the information on GCA of parents was not known when populations

Table 3. Mean seed yield of 14 high-yielding lines derived from each of the F_2 , F_3 , F_4 and F_5 of intraracial population TR 4683* of common bean grown at CIAT-Palmira, Colombia, in 1989, 1990 and 1991.

Generation	Seed yield (kg/ha)		
	Minimum	Maximum	Mean
F_2	1 801	2 288	2 059
F_3	1 579	2 241	2 009
F_4	1 811	2 361	2 067
F_5	1 868	2 423	2 085
Unselected bulk			2 980
Parents	1 890	2 263	2 025
LSD (0.05)		364	97

* All parents of population TR 4683 possessed characteristics of the race Mesoamerica.

for this study were developed. Nonetheless, it should be no surprise therefore to observe nonsignificant ($P > 0.05$) differences among lines derived from different generations of TR 4683 (Table 3).

The principal cause could be inadequate genetic variation in the base population, due in turn to the common origin of the parents. Similar conclusions were arrived at for other intraracial populations of common bean selected under different soil fertility levels (6), different plant populations (7), and different levels of disease pressure (9). Thus, in order to determine the most appropriate generation for effecting single plant selection in common bean populations, the selection experiment needs to be repeated in interracial populations involving genetically diverse, complementary, and high-yielding parents possessing positive GCA for seed yield.

CONCLUSION

There was marked reduction in plant population from F_2 to F_5 in SSB. On the other hand, population size increased in successive generations of inbreeding in the SPB. The mean yield was higher, and higher yielding lines were derived from SPB compared with SSB.

There were no significant differences for yield among lines derived from different generations of a small-seeded population (TR 4683) developed by hybridization within the race Mesoamerica. Also, none of the selected lines from this population outyielded its best parent.

LITERATURE CITED

- HAMBLIN, J. 1975. Effect of environment, seed size and competitive ability on yield and survival of *Phaseolus vulgaris* (L.) genotypes in mixtures. *Euphytica* 24:435-445.
- LEPIZ, R. 1982. Cambio de frecuencias genotípicas en compuestos de frijol. *Agricultura Técnica de México* 8:169-184.
- MIRANDA, S. 1969. Competencia entre tres variedades de frijol. *Agrociencia* 4:123-131.
- NIENHUIS, J.; SINGH, S.P. 1988. Genetics of seed yield and its components in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) of Middle-American origin. I. General combining ability. *Plant Breeding* 101:143-154.
- PESANHA, G.G.; VIEIRA, C.; SILVA, CC.; CARDOSO, A.A.; SILVA, AA.; SEDIYAMA, C.S. 1981. Adaptability and stability of performance of field bean varieties and varietal

- mixtures in the zona da Mata area, State of Minas Gerais. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 16:683-691.
6. SINGH, S.P.; URREA, C.A.; GUTIERREZ, J.A.; GARCIA, J. 1989. Selection for yield at two fertilizer levels in small-seeded common bean. Canadian Journal of Plant Science 69:1011-1017.
7. SINGH, S.P.; GUTIERREZ, J.A. 1990. Effect of plant density on selection for seed yield in two population types of *Phaseolus vulgaris* L. Euphytica 51:173-178.
8. SINGH, S.P.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D.G. 1991. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). Economic Botany 45:379-396.
9. SINGH, S.P.; PASTOR CORRALES, M.A.; MOLINA, A.; URREA, C.; CAJIAO, C. 1991. Independent, alternate, and simultaneous selection for resistance to anthracnose and angular leaf spot and effects on seed yield in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Plant Breeding 106:312-318.

CSSA (CROP SCIENCE SOCIETY OF AMERICA). 1992. Use of plant introductions in cultivar development. II. Special Publication no. 20. 166 p.

Este libro es una compilación de los trabajos presentados en la reunión de la CSSA en Texas (1990), sobre el uso de la introducción de plantas en el desarrollo de cultivares en el caso del frijol, leguminosas de clima frío, cultivos nuevos, maní, remolacha azucarera, caña de azúcar y girasol.

Cada capítulo se inicia con un resumen sobre el origen, introducción y estado actual de un cultivo determinado en los Estados Unidos de América. A continuación se hace referencia a sus aspectos genéticos, incluyendo la lista de material disponible, los métodos genéticos de trabajo de mejoramiento empleados y, en algunos casos, las posibilidades futuras de hibridización, entre otros.

Se consideran como leguminosas de clima frío, pero de origen mediterráneo, la arveja (*Pisum sativum* L.), lenteja (*Lens culinaris* Medik), garbanzo (*Cicer arietinum* L.), haba (*Vicia faba* L.) y jaramago (*Lathyrus sativus* L.). Como nuevos cultivos industriales se consideran el guayule (*Parthenium argentatum* Gray), kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), rosela (*H. sabdariffa* L.), guar o frijol de racimo (*Cyamopsis tetragonolobus* (L.) Taubert), grindelia (*Grindelia camporum* Greene), jojoba (*Simmondsia chinensis* (Link) C. Schneider),

merdowfoam o espuma del prado (*Limnanthes alba* Hartweg o Benth.), crambe (*Crambe abyssinica* Hochst. ex R.E. Fries), nabo (*Brassica napus* L. y *B. rapa* L.), calabaza de búfalo o de coyote (*Cucurbita foetidissima* HBK), cufea (*Cuphea* spp.), vernonia (*Vernonia galamensis* (Cass.) Less.) y stokes aster (*Stokesia laevis* (Hill) E. Gueve). Del segundo grupo se espera obtener productos para producir hule, aceites con ácidos grasos específicos, lubricantes, carburantes, alcoholes, ceras, gomas, plásticos, pinturas, adhesivos, recubridores, fibras, tintas, aceites esenciales, saborizantes, perfumes, cosméticos, materiales biológicamente activos y fármacos.

En la mayoría, el mejoramiento genético de esos cultivos se orienta a la obtención de cultivares de mayores rendimiento y concentración del componente deseado y mayor resistencia a las enfermedades. Ocasionalmente se menciona el mejoramiento para lograr características de manejo deseables (p.e. porte erecto para facilidad de cosecha) o tolerancia a tipos de estrés (p.e. resistencia a la sequía).

La obra es recomendable para técnicos que laboran en los cultivos ya mencionados, y para quienes deseen conocer las posibilidades de inversión en nuevos cultivos.

ALFREDO ALVARADO H.
CENTRO DE INVESTIGAC. AGRONÓMICAS
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Cuantificación de Compuestos Antinutricionales en Cuatro Especies Silvestres de *Amaranthus* en Nuevo León, México¹

P. Wesche-Ebeling*, D.J. González**, G. García**, R.K. Maiti**.

ABSTRACT

The levels of antinutritional factors in four wild species of *Amaranthus* (*A. blitoides* Wats., *A. palmeri* Wats., *A. retroflexus* L., and *A. viridis* L.) in the pre-flowering stage were determined. The compounds analyzed were nitrates, oxalates, cyanogenic glucosides, tannins and phytates. These compounds were found in levels lower than those reported as toxic by the literature, except for nitrates, which were found to be within the range considered as toxic (0.34% - 2.0%). However, nitrates can easily be eliminated by cooking in water. No HCN (determined through the indirect method for cyanogenic glucosides) was found in any of the samples. These results indicate that the four *Amaranthus* species have great potential as vegetables for human consumption or as animal forage, due to their low antinutritional factor content, as well as to the high nutritional value reported for this genus.

RESUMEN

Por medio de este trabajo se realizó la cuantificación de los compuestos antinutricionales en cuatro especies de *Amaranthus* silvestres en etapa de prefloración (*A. blitoides* Wats., *A. palmeri* Wats., *A. retroflexus* L. y *A. viridis* L.). Se analizó el contenido de nitratos, oxalatos, glucósidos cianogénicos, taninos y fitatos. Estos compuestos se encontraron en cantidades más bajas del nivel tóxico reportado en la literatura, con excepción del contenido de nitratos, el cual cayó dentro del rango de toxicidad reportado (0.34% - 2.0%); sin embargo, este compuesto puede eliminarse fácilmente mediante cocción en agua. No se detectó la presencia de HCN (método indirecto para la determinación de glucósidos cianogénicos) en ninguna especie. Estos resultados indican que las cuatro especies de *Amaranthus* tienen un gran potencial como verdura para consumo humano o forraje animal debido a su bajo contenido de antinutrientes, además del alto valor nutritivo informado en general para este género.

Palabras clave: *Amaranthus*, compuestos antinutricionales, nutrición.

INTRODUCCION

La investigación sobre el aprovechamiento de los recursos naturales, animales y vegetales, de gran valor nutritivo, ha sido siempre prioritaria. Aunque existe un gran número de cultivos nativos de importancia económica, estos no han sido explotados al máximo para beneficio social. Entre estos cultivos se tiene el amaranto silvestre.

Varias especies del género *Amaranthus* son importantes malezas de cultivo, en tanto que otras son ornamentales o plantas útiles con fines medicinales, como forrajeras y/o comestibles (2, 13). Las plantas de amaranto crecen, principalmente, en zonas cálidas o

templado-cálidas; toleran la sequía y poseen un sistema fotosintético muy eficiente, pues son especies C-4; además, muchas poseen un elevado contenido de proteínas en sus hojas y semillas (2, 13).

En México, la planta de amaranto silvestre se aprovecha casi en su totalidad. Se consume como verdura (hojas y tallos) o como "cereal" (semilla). Se cultiva principalmente en las zonas templadas en el sur del país; en la región noreste se encuentran diferentes especies de *Amaranthus*, que crecen en condiciones ambientales adversas.

En el estado de Nuevo León, Méx., se han realizado algunos trabajos sobre amaranto (14, 15, 20, 22), en los cuales se menciona el alto valor nutritivo de varias especies silvestres, y han recomendado a algunas de ellas con potencial alimenticio como verdura. Sin embargo es necesario conocer el contenido de factores antinutritivos presentes en estas plantas, pues influyen en la calidad nutritiva de las mismas. Tal es el caso de los nitratos, que pueden reaccionar con otros compuestos y formar nitrosaminas, compuestos altamente carci-

¹ Recibido para publicación el 5 de agosto de 1991.

* Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas; Apartado Postal 391, Santa Catarina Mártir, Puebla, Méx., C.P. 72820.

** Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ciudad Universitaria; Apartado Postal F-16, San Nicolás de los Garza, N.L., Méx., C.P. 66450.

nógenos (6); los oxalatos que afectan la absorción de calcio, pues forman compuestos insolubles difíciles de absorber por el organismo (11); los glucósidos cianogénicos, que son sustancias que liberan HCN, el cual causa envenenamiento (3); los taninos, que reaccionan con las proteínas y producen complejos insolubles, por lo que la proteína no puede ser metabolizada (1); los fitatos, que interfieren la disponibilidad de minerales (4, 17) y otros compuestos.

El objetivo de este trabajo fue cuantificar los compuestos antinutritivos en cuatro especies silvestres de *Amaranthus* de Nuevo León durante la etapa de prefloración, como primer paso en el estudio de su potencial nutritivo como verdura para humanos o forraje para animales.

MATERIALES Y METODOS

Material biológico

Ejemplares de *Amaranthus* silvestres en etapa de prefloración: *A. blitoides* Wats., *A. palmeri* Wats., *A. retroflexus* L. y *A. viridis* L. El material vegetal fue recolectado en los terrenos de la Ciudad Universitaria (San Nicolás de los Garza, Nuevo León, Méx.) y separado en sus diferentes porciones: hoja, tallo y planta entera, exceptuando la raíz; posteriormente se secó a 70 °C de 24 h - 48 h y, después, se procedió a moler las muestras, las que se guardaron en frascos de vidrio hasta el momento de su utilización. Se usaron tres plantas de cada especie y para cada sección (hoja, tallo y entera), combinándose el material antes del secado y mezclando perfectamente el polvo obtenido. Todos los análisis se llevaron a cabo por duplicado y con material vegetal seco, excepto en la determinación de glucósidos cianogénicos donde se trabajó con plantas frescas. En los casos en que la diferencia de los resultados obtenidos entre los duplicados excedía el 5%, se reparó el análisis.

Determinación de nitratos

Fue realizada mediante el método Kjeldahl modificado para incluir los nitratos (21). Esta técnica cuantifica el nitrógeno total (nitrógeno orgánico y de nitratos) y, mediante una modificación de la misma, se corrió un control para cuantificar solamente el nitrógeno orgánico, obtenido por diferencia.

Determinación de oxalatos

Se utilizó la cromatografía gas-líquida, de acuerdo a la técnica descrita por Sutikno *et al.* (16), con algunas modificaciones en el tratamiento de la muestra (12). Se empleó un cromatógrafo de gases marca Beckman modelo GC72-5, con integrador marca Spectra Physics modelo SP 4270 en las siguientes condiciones: columna de acero inoxidable con 190 cm de longitud y 1/8 pulgada de diámetro; fase estacionaria: desoxiglicol succinato (DEGS) 12%; soporte Anakrom, con un tamaño de malla de 80/100; detector de ionización de flama; temperaturas: columna = 120 °C; detector= 200°C; inyector= 150°C; flujos: aire = 240 cc/min, H₂= 30 cc/min, N₂= 30 cc/min (gas acarreador); presión = 40 psi; rango 100, y atenuación, 128.

Determinación de glucósidos cianogénicos

Se realizó mediante la determinación de ácido cianhídrico (método indirecto) en una planta fresca de acuerdo con la metodología descrita por Pethybridge, en 1919 (7, 10).

Determinación de taninos

El análisis se hizo por el método del HCl-vainillina modificado y reportado por Burns (1971) (20).

Determinación de fitatos

La concentración de fitatos presentes se cuantificó de acuerdo con la metodología descrita por Davis (4).

RESULTADOS Y DISCUSION

Nitratos

El presente trabajo mostró un contenido de nitratos entre 0.42% y 2.57% en base seca (b.s.), encontrándose los valores más altos en el tallo (Cuadro 1). Aunque las cantidades obtenidas se mantienen en el rango de toxicidad reportado (0.34% - 2.0% b.s.), no representaría un riesgo si estas plantas se hierven antes de usarlas, ya que

los nitratos se eliminan casi en su totalidad en el agua de cocción (5).

Cuadro 1. Contenido¹ de nitratos (porcentaje de base seca) en cuatro especies de *Amaranthus* en etapa de prefloración.

Especie	Hoja	Tallo	Entera
<i>A. blitoides</i>	0.80	2.57	1.20
<i>A. palmeri</i>	0.40	1.37	1.64
<i>A. retroflexus</i>	1.02	1.37	0.80
<i>A. viridis</i>	0.89	1.86	1.02
Espinaca ²	1.22		
<i>A. caudatus</i> ²	1.57 ³		
<i>A. cruentus</i> ²	1.15 ³		

1 Análisis por duplicado, error estándar <5%; 2 (8); 3 follaje.

Oxalatos

En las especies de amaranto analizadas se encontraron valores entre 0.17% y 0.42% en b.s., siendo mayor la cantidad de este compuesto en la planta entera, excepto en el caso de *A. retroflexus* que tuvo su máximo valor en la hoja (Cuadro 2). Estos valores son bajos si se comparan con otras especies de amaranto reportadas en la literatura (8).

Cuadro 2. Contenido¹ de oxalatos (porcentaje de base seca) en cuatro especies de *Amaranthus* en etapa de prefloración.

Especie	Hoja	Tallo	Entera
<i>A. blitoides</i>	0.17	0.18	0.35
<i>A. palmeri</i>	0.35	0.40	0.42
<i>A. retroflexus</i>	0.32	0.25	0.28
<i>A. viridis</i>	0.24	0.21	0.26
Espinaca ²	5.60		
<i>A. caudatus</i> ³	2.24 ⁴		
<i>A. cruentus</i> ³	3.92 ⁴		

1 Análisis por duplicado, error estándar <5%; 2 (8); 3 (18); 4 follaje.

Glucócidos cinógenos

En las cuatro especies de *Amaranthus* analizadas no se encontró HCN (método indirecto para determinar glucósidos cianogénicos), aun después de aumentar el peso de la muestra al doble, y utilizando plántulas de sorgo y soluciones estándar de KCN como testigos. Esto favorece el empleo de la porción vegetativa de amaranto como alimento.

Taninos

En relación con el contenido de taninos se determinaron valores entre 0.004 y 0.068 equivalentes de catequina, encontrándose en la hoja las mayores cantidades (Cuadro 3); estos valores concuerdan con lo informado en la literatura para otras especies de *Amaranthus* (8, 18), no siendo consideradas las concentraciones dañinas pues se ha establecido que son necesarias concentraciones de catequinas de 2% o más en la dieta, para causar disminución en el crecimiento (9).

Cuadro 3. Contenido¹ de taninos (expresados como equivalentes de catequina) en cuatro especies de *Amaranthus* en etapa de prefloración.

Especie	Hoja	Tallo	Entera
<i>A. blitoides</i>	0.068	0.015	0.039
<i>A. palmeri</i>	0.039	0.004	0.017
<i>A. retroflexus</i>	0.053	0.005	0.011
<i>A. viridis</i>	0.044	0.005	0.016
<i>A. cruentus</i> ²	0.026		
<i>A. edulis</i> ²	0.22		
<i>A. hybridus</i> ²	0.12		

1 Análisis por duplicado, error estándar <5%; 2 (8); 3 (19).

Fitatos

El contenido de fitatos fue variable con valores que van desde 0.17% a 0.36 por ciento. Este compuesto se encontró en mayor cantidad, principalmente en la hoja (Cuadro 4). Sin embargo, esas cantidades no alcanzaron el nivel tóxico del 1% citado por Davis (4), por lo que las cuatro especies de *Amaranthus* presentaron un nivel aceptable del compuesto. Comparando el amaranto con la espinaca, la cual presenta valores de nitrato y oxálico anhidro de 1.22% y 9.3% b.s., respectivamente (8), se observa que las cuatro especies analizadas son bajas en oxalato y similares en nitratos a la espinaca. Estos dos compuestos pueden disminuirse si los vegetales se someten a cocción, con lo cual estos antinutrientes serían ingeridos en menores cantidades.

Cuadro 4. Contenido¹ de fitatos (porcentaje de peso seco) en cuatro especies de *Amaranthus* en etapa de prefloración.

Especie	Hoja	Tallo	Entera
<i>A. blitoides</i>	0.25	0.19	0.35
<i>A. palmeri</i>	0.36	0.17	0.35
<i>A. retroflexus</i>	0.36	0.22	0.20
<i>A. viridis</i>	0.35	0.34	0.21
<i>A. cruentus</i> ²	0.50	-0.62	
<i>A. hybridus</i> ²	0.55		
<i>A. hypochondriacus</i> ²	0.54	-62	

1 Análisis por duplicado, error estándar <5%; 2 (8).

CONCLUSIONES

Muchas especies de *Amaranthus* se han consumido tradicionalmente hasta nuestros días, ya sea como verdura o como cereal, en varios lugares, incluso en la India y en América, especialmente en la región andina, Centroamérica y México (18). Por otro lado, las plantas de *Amaranthus* son sumamente resistentes y crecen en forma silvestre en suelos con bajo aporte de agua o nutrimentos; esto se observa principalmente en el caso de campos agrícolas, en los que ocurre una proliferación de plantas de amaranto después de recolectar la cosecha (15). Estas plantas silvestres de amaranto han recibido poca atención; sin embargo, el alto valor nutritivo del amaranto cultivado hace necesario el estudio del potencial nutritivo de las especies silvestres, tanto para consumo humano como animal.

En esta investigación se confirmó una toxicidad baja en las especies silvestres estudiadas; no obstante, los nitratos están presentes en niveles elevados, aunque en cantidades comparables a las encontradas en espinaca o en especies cultivadas de amaranto. Además, los nitratos se eliminan durante la cocción. Se puede concluir que, desde el punto de vista toxicológico, las cuatro especies de *Amaranthus* analizadas se pueden consumir como verdura. La aceptación final deberá ser verificada mediante pruebas sensoriales de diferentes presentaciones como verdura.

LITERATURA CITADA

1. BADUID, S. 1986. Química de los alimentos. México, D.F. Ed. Alhambra Mexicana 430 p.
2. BERTONI, M.H.; GOMEZ, R.G.; CATTANEO, P.; COVAS, G. 1984. Estudios sobre semillas de especies americanas de *Amaranthus*. I. Aceites de *A. caudatus*, *A. cruentus* y *A. mantegazzianus*. Anales de la Asociación Química Argentina 72(4):391-397.
3. CONN, E.E. 1973. Cyanogenic glycosides. In Toxicants occurring naturally in food. 2nd. ed. Washington, D.C., National Academy of Sciences. p. 299-306.
4. DAVIS, K.R. 1981. Proximate composition, phytic acid, and total phosphorus of selected breakfast cereals. Cereal Chemistry 58(4):347-350.
5. DE TROIANI, R.M. 1989. Contenido de nitratos y proteína en plántulas de *Amaranthus cruentus* L. cv. Don Guiem. Universidad Nacional de La Pampa, Facultad de Agronomía, Arg. Amarantos Novedades e Informaciones 2:3-4.
6. FASSETT, D.W. 1973. Nitrates and nitrites: Oxalates. In Toxicants occurring naturally in foods. 2nd. ed. Washington, D.C., National Academy of Sciences p. 7-21, 346-359.
7. GARCIA MENDOZA, F. 1986. Estudio comparativo sobre algunas características morfológicas, anatómicas y bioquímicas en las líneas "glossy" y "no glossy" de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) en diferentes etapas de desarrollo. Tesis de Licenciatura Monterrey, Méx., Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. 87 p.
8. GOMEZ, R.G.; BERTONI, M.H.; COVAS, G. 1986. Composición química general y contenido de oxalatos y nitratos totales y remanentes después de cocción del follaje en especies americanas de amarantos (*Amaranthus* spp.). Anales de la Asociación Química Argentina 74(4):333-338.
9. IMERI VELARDE, A.G. 1985. Estudio de algunos aspectos químicos, biológicos y tecnológicos de 25 variedades de *Amaranthus caudatus*. Tesis de Maestría. INCAP/Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 83 p.
10. LEAL RIOS, F. 1990. Variabilidad del carácter "glossy" y cera epicuticular en sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) y su relación con la resistencia a sequía. Tesis de M.Sc. en Producción Agrícola. Marín, Méx., Facultad de Agronomía. 95 p.
11. LIBERT, B.; FRANCESCHI, V.R. 1987. Oxalate in crop plants. Journal of Agricultural Food Chemistry 35(6):926-938.
12. MAITI, R.K.; WESCHE-EBELING, P.; SOSA-ALVARADO, F. 1991. Especies silvestres de *Amaranthus* de Nuevo León, Méx. I. Aspectos ecológicos y botánicos. II. Patrones de crecimiento. Universidad y Ciencia (UJAT-Méx.) 8(15):61-67, 69-76.
13. ONOFRE GOMEZ, J.L. 1990. Análisis químico-toxicológico de la planta y semilla de *Brassica campestris* L. y *Sisymbrium irio* L. Tesis Lic. Monterrey, N.L., Méx., Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. 44 p.
14. POGGIO, L. 1987. Aspectos citogenéticos de los amarantos silvestres y cultivados. In Primeras Jornadas Nacionales sobre Amarantos. Actas Universidad Nacional de La Pampa, Arg., Facultad de Agronomía. p. 34-44.
15. ROSASCHIAPA, J.L. 1984. Notas autoecológicas del quelite (*A. retroflexus* L.) en el municipio de Gral. Escobedo, Nuevo León, México. Tesis Lic. Monterrey, Méx., Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. 160 p.
16. SUTIKNO, A.I.; SUHERMAN, D.; TANGENDJAJA, B. 1987. A screening method for total oxalate determination in plant material by gas chromatography. Journal of the Science of Food and Agriculture 39:233-238.
17. TANGKONGCHITR, U.; SEIB, P.A.; HOSENEY, R.C. 1981. Phytic acid. I. Determination of three forms of phosphorus in flour, dough and bread. Cereal Chemistry 58(3):226-228.
18. TEUTONICO, R.A.; KNORR, D. 1985a. Amaranth: Composition, properties, and applications of a rediscovered food crop. Food Technology. p. 49-60.
19. TEUTONICO, R.A.; KNORR, D. 1985b. Nondestructive method for determination of water-soluble oxalate in cultured *Amaranthus tricolor* cells. Journal of Agricultural Food Chemistry 33:60-62.

20. TORRES CEPEDA, T.E. 1990. Estudio comparativo de las características anatómicas, morfológicas y algunos aspectos bioquímicos y nutricionales de variedades de granos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) utilizado para alimentación de ganado bovino de engorda en el noreste del país. Tesis de Maestría en Ciencias con Especialidad en Botánica. Monterrey, Méx., Universidad Nacional de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. 179 p.
21. USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE). 1981. Investigación de suelos: Métodos de laboratorio y procedimientos para recoger muestras. EE.UU., Departamento de Agricultura, Servicio de Conservación de Suelos. México, D.F., Trillas p. 102-103.
22. VIRAMONTES GARCIA, R.L. 1986. Contribución al conocimiento del *Amaranthus* spp. (quelite): Taxonomía-bromatología, en 10 municipios de Nuevo León, México. Tesis Lic. Monterrey, Méx., Universidad de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. 48 p.

VAN REEUWIJK, L.P. (ED.). 1992. Procedures for soil analysis. 3d. ed.). Wageningen, The Netherlands, International Soil Reference and Information Centre (ISRIC). Technical Paper no. 9, p.i.

La importancia de la tercera edición del Manual de Procedimientos de Análisis de Suelos del ISRIC radica en que representa la metodología estandarizada internacional en el área de análisis de suelos. Los capítulos del libro corresponden a métodos específicos relacionados con procedimientos para la clasificación de suelos; y no se incluyen muchos otros métodos requeridos para otros fines (p.e. fertilidad).

No se incluye en el libro la caracterización del sitio de muestreo. Aunque otros textos disponibles contemporáneos (Anderson e Ingram 1989 en el *Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods*, CAB-International) enfatizan en la necesidad de contar con esta información para poder interpretar adecuadamente los resultados del análisis.

Se incluyen 25 métodos de análisis muy bien descritos, que contrasta con la innumerable colección y descripción de métodos incluidos en otro texto similar publicado por el USDA (Soil Survey Staff 1992, *Soil Survey Laboratory Methods Manual. Soil Survey Investigations Report no. 42*). Esta discrepancia entre dos documentos de la misma fecha, y diseñados para un mismo fin, dejan entrever la diferencia en enfoques entre el ISRIC y el USDA.

A pesar de que el Dr. van Reeuwijk es coautor con el Dr. Mozota en otra publicación del ISRIC de 1989 (*Cly Mineralogy and Chemistry of Soils Formed in Volcanic Material in Diverse Climatic Regions. Soil monograph no. 2*), los métodos citados para caracterizar este tipo de suelos tampoco se incluyen en el Technical Paper no. 19, debido a que la metodología aún no es oficial.

DR. ALFREDO ALVARADO H.
CENTRO DE INVESTIGAC. AGRONÓMICAS
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Interacción Genótipo por Ambiente en el Rendimiento Comercial del Tomate en América Latina y el Caribe¹

R. Ortíz*, J. Izquierdo**

ABSTRACT

The first regional tomato trial was organized by FAO/RLAC in cooperation with Latin American and Caribbean national programs to evaluate the performance of different genotypes in a wide range of environments and to compare them with a local control widely used in each country. This regional trial was also useful in determining importance of the genotype by environment (GE), and interaction for marketable yield (MY) in tomato. Fifteen genotypes (9 open-pollinated (OP) and 6 hybrid (H) cultivars) were compared across 20 locations using randomized complete block designs with four replications. Significant differences in MY were found among the environments. They were statistically grouped as high-yielding (significantly higher than the mean), average (equal to the mean), low-yielding (significantly lower than the mean at $p = 0.05$), and very low-yielding (significantly lower than the mean at $p = 0.01$) environments. The cultivars varied significantly for MY in high- and low- but not in very low-yielding environments. It always had higher MY than did the OP cultivars, and also in low-yielding environments. GE interactions were significant in all the environments groups. Genotypes with phenotypic stability for MY in high yielding environments had high and stable MY in average and low-yielding environments. This indicated that selection for MY phenotypic stability is possible and that the preliminary identification of high-yielding stable genotypes could be done in environments where the genotypes reach their maximum yield potential.

RESUMEN

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación/Región Latinoamericana y el Caribe (FAO/RLAC) organizó el primer ensayo regional de cultivares de tomate en cooperación con los programas nacionales en América Latina y el Caribe, para evaluar diversos genótipos en un amplio rango de ambientes y compararlos con el cultivar de mayor uso local. Esta prueba regional también sirvió para estudiar la interacción genótipo por ambiente (GA) en el rendimiento comercial (RC) del tomate. Quince genótipos—nueve de polinización libre (PL) y seis híbridos (H)—fueron comparados en ensayos realizados en 20 localidades, utilizando bloques completos aleatorios con cuatro repeticiones. Se encontraron diferencias altamente significativas en RC entre los ambientes empleados. Estos se agruparon estadísticamente como: alto RC (significativamente mayor que el promedio), medio (igual que el promedio), bajo (significativamente menor que el promedio con $p = 0.05$) y muy bajo (significativamente menor que el promedio con $P = 0.01$). El RC varió significativamente entre los cultivares evaluados en ambientes de RC alto y bajo, mas no en los de muy bajo RC. Los H siempre tuvieron mayor RC que los PL, incluso en ambientes con muy bajo RC. La interacción GA fue altamente significativa en todos los ambientes. Genótipos con estabilidad fenotípica para RC en ambientes con alto porcentaje de esa variable fueron más rendidores, e igualmente estables los ambientes de RC medio y bajo. Esto indicó que la selección por estabilidad fenotípica de RC es posible, y que la identificación inicial de genótipos estables y rendidores podría realizarse en ambientes óptimos, donde aquellos demuestren su máximo potencial de rendimiento.

Palabras clave: Estratificación ambiental, hereditabilidad, parámetros de estabilidad fenotípica, selección.

INTRODUCCION

Las hortalizas tienen importancia socioeconómica en los países de América Latina y del Caribe por su consumo (14) y valor nutricional (29). Además son una importante fuente de ingresos para los pequeños productores. Asimismo se alcanza un mayor desarrollo tecnológico en la agricultura cuando las hortalizas se producen para la exportación.

El tomate es la hortaliza de mayor cultivo y popularidad en la región. En América Latina y el Caribe, se

¹ Recibido para publicación el 18 de febrero de 1992.

Los autores agradecen el apoyo de los científicos de los programas nacionales de América Latina y el Caribe para la realización de este primer ensayo regional de tomate, organizado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO)/Región Latinoamericana y el Caribe (RLAC).

* International Institute of Tropical Agriculture (IITA), PMB, 5320, Oyo Rd., Ibadan, Nigeria.

** FAO/RLAC, Santa María 6700, Apartado Postal 10095, Santiago, Chile.

siembran anualmente 252 mil hectáreas de esa hortaliza. Su popularidad se debe a que provee vitaminas a la dieta de los seres humanos y tiene un amplio rango de adaptación en diferentes suelos y climas, aunque muestra preferencia por una larga estación cálida y suelos bien drenados (17). El cultivo del tomate se ve limitado por las condiciones adversas como la temperatura, humedad, alta incidencia de enfermedades y plagas que afectan su rendimiento y la calidad de sus frutos.

El método de pruebas regionales ha sido utilizado por la FAO y otros centros internacionales y regionales en diferentes cultivos alimenticios. Permite evaluar nuevos recursos genéticos que son compartidos simultáneamente por los programas nacionales.

Los objetivos de la prueba regional de cultivares de tomate para mercado fresco, organizada por FAO/RLAC fueron los siguientes:

- Evaluar el rendimiento comercial y adaptación de variedades de polinización libre (PL) e híbridos (H) de diferentes programas de mejoramiento genético dentro de un amplio rango de condiciones en la región.
- Comparar, en cada localidad, la mejor variedad de la zona (testigo local) con las incluidas en la prueba regional.
- Proveer los programas nacionales con cultivares mejorados en los programas de fitomejoramiento, mediante el cruzamiento o distribución directa.

REVISIÓN DE LITERATURA

La introducción de cultivares híbridos de tomate en la producción comercial puede ser importante para el incremento del rendimiento, el mejoramiento de la calidad del fruto y, especialmente, la precocidad y uniformidad del cultivo. (La mención de un cultivar específico o firma comercial en este artículo no es auspiciado por la FAO; se recomienda seguir las indicaciones de los programas nacionales). Es por ello que en Hungría los tomates híbridos se consideran más convenientes para usarlos en las fábricas de enlatados (7).

Powers (22) indica que la heterosis en tomate se debe a la acción complementaria de *loci* independientes que controlan el número y la dimensión del fruto, y que mejoran transgresivamente el rendimiento total (hete-

rosis no alélica). Por ejemplo, el cruzamiento entre una línea de pocos frutos grandes y otra de numerosos frutos pequeños resulta en una F_1 con mayor rendimiento y, además, con frutos que tienen características intermedias en relación con sus progenitores.

Los inconvenientes para la utilización de híbridos, producidos principalmente por compañías privadas productoras de semilla, en el cultivo del tomate son: costo de producción de la semilla y alta utilización de insumos agrícolas para su cultivo. Por su lado, los programas nacionales de la región han seleccionado variedades mejoradas de polinización libre con un costo de producción de semillas menor. Esas variedades se han obtenidos por métodos como la selección masal, cruzamiento y selección genealógica, y retrocruzamiento.

La interacción genótipo por ambiente (GA) y su importancia en el desarrollo de los programas de selección es ampliamente reconocida por los fitomejoradores. Hill (12) indica que la interacción GA implica una variación en la clasificación de los genótipos en un ensayo de acuerdo con el ambiente en que se cultivaron. Allard y Bradshaw (1) sugieren que una variedad puede alcanzar su estabilidad fenotípica debido al "amortiguamiento" poblacional —si está constituida de varios genótipos y con cada uno adaptado a un amplio rango de condiciones ambientales o individuales— en poblaciones genéticamente homogéneas. En especies autógamias como el tomate, se considera que ese "amortiguamiento" es una propiedad genotípica no asociada con el nivel de heterocigosis. Eberhart y Russell (8) señalan que la estabilidad fenotípica está controlada genéticamente y, por ello, se observan diferencias genotípicas para esta característica. Es por eso que Bradshaw (4) propone realizar la selección por estabilidad genotípica.

Yates y Cochran (32) fueron los primeros en proponer la técnica de regresión para estudiar la interacción GA. Estimaron la asociación entre las diferencias varietales y la fertilidad del suelo, por medio de la regresión de los rendimientos individuales de las variedades sobre el rendimiento promedio de cada una de ellas en ambientes.

El coeficiente de regresión (b) representó el índice de estabilidad de cada genótipo. Posteriormente se propusieron diversos métodos para medir la interacción GA y la estabilidad de las variedades (2, 3, 5, 8, 9, 10, 11, 15, 16, 19, 20, 22, 23, 24, 26, 27, 28, 30, 31, 33). El

más usado es el modelo de Eberthart y Russell (10), que es una modificación de la técnica de regresión empleada por Finlay y Wilkinson (9). Este método utiliza tres parámetros para evaluar el comportamiento de las variedades en un grupo de ambientes: promedio de la variedad, coeficiente de regresión entre el rendimiento promedio de cada variedad y un término medio ambiental y desviaciones de la regresión (sb). Estos autores consideran que se deberían seleccionar como variedades a aquellas que tengan $b = 1$ y $s_b = 0$. Sin embargo, Márquez (16) encontró que, en ambientes fluctuantes (agricultura de tipo aleatorio), es preferible la seguridad del rendimiento a través del tiempo que la obtención de altos rendimientos. Por eso sugirió que la variedad debe tener $b < 1$. En contraste, con ambientes en donde la agricultura tiene cierta seguridad económica para la obtención de insumos y protección fitosanitaria las variedades con $b = 1$ ó $b > 1$ también podrían ser tomadas en cuenta.

Izquierdo *et al.* (13) indicaron que el análisis de estabilidad del rendimiento fue una herramienta útil en la identificación de cultivares de tomate para la industria en Uruguay. Cuartero y Cubero (8) señalaron que los híbridos de tomate fueron más estables que sus progenitores en un análisis realizado en cuatro ambientes de España. Stofella *et al.* (24) encontraron diferencias en la estabilidad del rendimiento entre genótipos de tomate para consumo fresco en Norteamérica. Estos autores recomendaron que la selección de los genótipos de tomate con amplia adaptación debería ser considerada por los programas de mejoramiento. Posya *et al.* (20) hallaron que los genótipos de tomate con bajo rendimiento tuvieron una estabilidad mayor que los de alto rendimiento y que fueron inestables en diferentes ambientes de la región norte de América.

MATERIALES Y METODOS

El ensayo regional incluyó 16 genótipos distribuidos de la siguiente manera: nueve cultivos de polinización libre ('Catalina', 'Dina RPs', 'Licapel 21', 'Triuque', 'Angela Gigante', 'CL 5915-23', 'CL 5915-93', 'NC EBR-2' y 'Flora Dade', testigo regional); seis híbridos ('Apla', 'Narita', 'Contessa I', 'Luxor', 'BHN-39' y 'Sunny'), y cada programa nacional participante incluyó una variedad de amplio uso como testigo local.

El diseño experimental fue de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La parcela experimental incluyó 36 plantas distribuidas en cuatro surcos de nueve plantas cada uno. La unidad experimental consistió en cinco plantas centrales en el segundo y tercer

surco (total 10 plantas). El distanciamiento en el trasplante fue de 1.5 m entre surcos y 0.5 m entre plantas. El manejo agronómico fue el recomendado para cada localidad; se incluyó, en ciertos casos, soporte artificial, poda, desmalezamiento, riego y tratamientos fitosanitarios.

Sesenta y ocho ensayos fueron enviados a los programas nacionales de 32 países de la región en 1987. Sin embargo fueron remitidos a FAO/RLAC (14) solamente los resultados completos de 20 ambientes, los que se incluyeron en este trabajo.

Se evaluó el número y el peso del fruto por categoría de calidad y por cosecha. La categoría de calidad comercial (RC) comprendió frutos sin defectos ni daños con un diámetro ecuatorial > 48 milímetros. De igual forma, se realizaron observaciones sobre hábito de crecimiento, fecha de floración, síntomas de enfermedades, presencia de plagas y desórdenes fisiológicos. Los datos meteorológicos, condición del suelo, control de enfermedades y plagas y la fertilización N-P-K fueron también registrados en cada localidad (14).

Los datos de RC fueron analizados usando el análisis de variancia individual en cada localidad. Análisis de variancia combinados para grupos similares de ambientes fueron realizados siguiendo la metodología de Nevado y Ortiz (18). Los ambientes fueron agrupados de acuerdo a su rendimiento: Alto (significativamente más alto que la media), medio (estadísticamente igual a la media), bajo (significativamente menor que la media) y muy bajo (estadísticamente menor que la media $p = 0.01$).

Estimados de variancia genotípica (∂^2g), genotípica por ambiente (∂^2ga) y fenotípica (∂^2f) fueron obtenidos para calcular la hereditabilidad en sentido amplio (H),

donde:

$$H = \partial^2g / \partial^2f$$

y,

$$\partial^2f = (\partial^2g + \partial^2ga/a + \partial^2e/ar);$$

siendo,

$$\partial^2e = \text{variancia del error};$$

"a" = número de ambientes; y

"r" = número de repeticiones en cada ambiente.

Cuadro 1. Análisis de variancia combinado para rendimiento comercial de tomate (t/ha) en diferentes grupos de localidades.

Fuente de variación	Grados de libertad		Cuadrados medios en ambientes de rendimiento			
	Alto-Bajo	Muy bajo	Alto N = 4	Medio N = 4	Bajo N = 4	Muy bajo N = 8
Localidades (L)	I-1=3	7	4 4426 884***	55 976 ns	76.677 ns	1 356 024**
Repeticiones /L	(r-1)I=12	24	469 993*	58 566	177 853	100.394
Genótipos (G)	g-1 = 14	14	4 665 960*	301.104 ns	554 410 ns	85 997 ns
G x L	(g-1) (I-1)= 42	98	1 469 007	161 867 **	182.775***	118.671 ***
Error	I(r-1) (g-1) =168	336	179.127	92.773	68 906	17 334
Coefficiente de variación (CV %)			19.24	37.17	39.42	48.83
Promedio (t/ha)			69.55	25.91	21.06	8.62
Rango (t/ha)			89.93-29.75	26.59-24.49	22.43-19.95	15.37-2.71

ns, *, *** Indican no significativo y significativo a los niveles 0.05, 0.01, y 0.001, respectivamente.

Correlaciones entre las medias de los cultivares en cada grupo de localidades y los órdenes de mérito fueron realizadas para estudiar los efectos en la selección de genótipos en los distintos ambientes utilizados.

Los parámetros de estabilidad de Eberhart y Russell (10) fueron estimados en cada uno de los cultivares en el ensayo regional.

RESULTADOS

Se encontraron diferencias significativas para el RC entre las localidades consideradas con un valor alto o muy pobre de esa variable (Cuadro 1). Igualmente los genótipos variaron significativamente en ensayos conducidos en ambientes con alto o bajo RC; para los genótipos evaluados en ambientes medios o muy bajos, no se registraron diferencias significativas. La interacción genotipo por ambiente (GA) fue altamente significativa en todos los grupos de ambientes.

Los coeficientes de variación se incrementaron inversamente al promedio del rendimiento en cada grupo.

Los estimados de los componentes de variancia y hereditabilidad en sentido amplio para el RC (Cuadro 2) muestran que, en ambientes de alto y bajo RC, la última fue más alta. En ambientes de muy bajo RC, debido al componente negativo de la variancia genotípica, la hereditabilidad no se pudo estimar. El componente de variancia genotípica fue significativamente diferente de cero en ambientes de alto y bajo RC. Asimismo, el componente de la variancia genotípica por ambiente fue altamente significativo en todos los grupos.

Los rendimientos de cada uno de los cultivares así como sus órdenes de mérito para el RC se indican en el Cuadro 3. Es importante destacar que los híbridos resultaron ser superiores a los cultivares de polinización libre, aun en ambientes considerados muy pobres. Igualmente los híbridos BHN-39 y Narita se comporta-

Cuadro 2. Componentes de variancia y hereditabilidad de rendimiento (t/ha) en diferentes grupos de localidades.

Ambiente	Variancia genética	Variancia genética por ambiente	Variancia del error	Variancia fenotípica	Hereditabilidad
Rendimiento alto	199.810 ± 104.946	322.470 ± 78.449	179.127	291.623	0.685
Rendimiento medio	8.701 ± 6.994	17.278 ± 8.988	92.773	18.819	0.462
Rendimiento bajo	23.227 ± 12.490	28.467 ± 9.910	68.906	34.650	0.670
Rendimiento muy bajo	-2.042 ± 1.085	25.234 ± 4.209	17.734	5.375	-

Cuadro 3. Rendimiento comercial (t/ha) de 15 cultivares de tomate en cuatro grupos con variable número de ambientes.

Cultivar	Tipo ¹	Ambientes con rendimiento			
		Alto (N = 4)	Medio (N = 4)	Bajo (N = 4)	Muy bajo
'Catalina'	PL-SD	72.48 (8) ²	24.45 (9)	22.82 (7)	9.59 (6)
'Dina RPs'	PL-SD	69.68 (10)	27.42 (7)	29.03 (2)	10.45 (3)
'Licapel 21'	PL-I	36.11 (15)	21.79 (12)	11.84 (15)	7.26 (12)
'Triuque'	PL-D	66.85 (11)	22.66 (11)	22.67 (8)	7.74 (9)
'Apla'	H	76.43 (7)	25.94 (8)	20.75 (9)	6.90 (14)
'Narita'	H	81.71 (4)	31.39 (2)	24.80 (5)	11.35 (2)
'Contessa'	H	76.49 (6)	29.84 (4)	26.25 (3)	7.30 (11)
'Luxor'	H	88.99 (2)	28.77 (5)	23.80 (6)	9.70 (5)
'BHN-39'	H	82.20 (3)	27.47 (6)	29.95 (1)	11.52 (1)
'Angela Gigante'	PL-I	51.98 (12)	21.13 (13)	13.48 (13)	6.99 (13)
'Sunny'	H	94.27 (1)	33.86 (1)	25.94 (4)	7.80 (8)
'CLS 5915 223'	PL-D	41.58 (14)	20.65 (14)	15.22 (12)	8.36 (7)
'CLS 5913 93'	PL-D	51.43 (13)	23.02 (10)	13.17 (14)	9.85 (4)
'NC-EBR 2'	PL-D	71.98 (9)	20.03 (15)	16.65 (11)	7.70 (10)
'Flora Dade'	PL-TR	81.02 (5)	30.43 (3)	19.79 (10)	6.84 (15)
Rango		36-94		11-29	6-11
DLS _{0.05}		9.34	6.72	5.79	2.07

1. PL-SD: polinización libre semideterminado; PL-I: polinización libre indeterminado; H: híbrido; PL-D: polinización libre determinado; y PL-TR: polinización libre, testigo regional.

2. Orden de mérito en paréntesis.

ron establemente y, por ello, se les identificó como genótipos rendidores en todos los conjuntos.

Las correlaciones, utilizando las medias de RC de los cultivares en cada localidad, indican que estos se ordenaron estadísticamente de manera similar por su RC en localidades de alto, medio y bajo RC, aunque los valores de cada uno de los cultivares, en esas localidades, no se correlacionaron con el RC obtenido en localidades de muy bajo RC (Cuadro 4). Lo mismo se observó cuando se correlacionaron los órdenes de mérito de los cultivares en cada grupo de ambientes.

Los parámetros de estabilidad fueron estimados solamente en el grupo de localidades de alto RC; en las localidades de RC medio y bajo no se encontraron di-

ferencias significativas entre ellas (Cuadro 1); fue en estas localidades y en las de RC muy bajo, donde los cultivares no respondieron linealmente a las variaciones ambientales, que se estimaron por sus respectivos índices. Los parámetros de estabilidad (Cuadro 5) en ambientes de alto RC indican que la variedad estable fue BHN-39.

DISCUSION

La estratificación ambiental para estudiar la interacción GA en el RC del tomate resultó útil para entender los resultados de la prueba. Se estableció que los ambientes con alto RC permiten una mejor diferenciación fenotípica del RC, pues el genotipo puede expresar su máximo potencial de rendimiento. Igual-

Cuadro 4. Correlaciones entre medias de cultivares por localidad para RC (t/ha) de tomate (por encima de la diagonal), y de rango de Spearman para medias de cultivares por localidad para RC de tomate (por debajo de la diagonal).

	Ambiente de rendimiento			
	Alto	Medio	Bajo	Muy Bajo
Alto	-	0.798***	0.778***	0.234 ns
Medio	0.828***	-	0.710**	0.240 ns
Bajo	0.728**	0.682**	-	0.496 ns
Muy Bajo	0.218 ns	0.211 ns	0.504 ns	-

ns, *, **, ***: Indican que la correlación fue no significativa, significativa al 0.05, 0.01 y 0.001 con el nivel de probabilidad, respectivamente.

Cuadro 5. Parámetros de estabilidad fenotípica de RC (t/ha) de cultivares de tomate en ambientes de alto rendimiento en América Latina (Chile-Ecuador-Perú).

Cultivar	Tipo ¹	Promedio	Parámetros de estabilidad fenotípica		
			b	S _b	r ²
'Catalina'	PL-SD	72.48	1.349	0.123	0.984*
'Dina RPs'	PL-SD	69.68	0.802	0.467	0.596
'Licapel 21'	PL-I	36.11	0.423	0.471***	0.287
'Triuque'	PL-D	66.85	0.683	0.233***	0.612
'Apla'	H	76.43	1.168	0.157	0.965*
'Contessa'	H	81.71	1.187	0.412***	0.806
'Narita'	H	<u>76.49</u>	<u>1.151</u>	<u>0.138</u>	<u>0.972*</u>
'Luxor'	H	88.99	1.400	0.124	0.984*
'BHN-39'	H	<u>82.20</u>	<u>0.968</u>	0.050	0.995**
'Angela Gigante'	PL-I	51.98	0.755	0.389***	0.653
'Sunny'	H	94.27	1.551	0.274***	0.941*
'CLS 5915 223'	PL-D	41.58	0.411	0.449***	0.295
'CLS 5913 93'	PL-D	51.43	0.301	0.506	0.150
'NC-EBR 2'	PL-D	71.98	1.491	0.754***	0.662
'Flora Dade'	PL-TR	81.02	1.361	0.522***	0.773

1/PL-SD: polinización libre, semideterminado; PL-I: polinización libre, indeterminado; H: híbrido, PL-D: polinización libre, determinado; OP-TR: polinización libre, testigo local.

*, **, ***: Indican significativo en el nivel de probabilidad 0.05, 0.01 y 0.001, respectivamente.

mente, y de acuerdo al análisis de variancia (Cuadro 1), los ambientes de muy bajo RC como no se pueden definir no son adecuados para la selección por RC de cultivares de tomate. Las diferencias entre ellos pueden explicarse como el efecto de la interacción GA y señalan la existencia de una adaptación particular en cada localidad de los genótipos probados.

La utilización de la hereditabilidad en el estudio de la interacción GA indica claramente que, a pesar de ser significativa en ambientes con alto y bajo RC, los estimados pueden ser altos, si existe suficiente variabilidad genotípica. Esto queda establecido al compararse los componentes de variancia de la interacción GA con sus respectivos errores estándar (Cuadro 2). Aunque en las localidades de alto y bajo RC esta relación fue de 4.11 y 2.87, respectivamente, la hereditabilidad fue significativa, porque la relación de la variancia genética con respecto a su error estándar fue 1.90 y 1.86 para cada uno de los grupos de ambientes. En los ambientes de RC medio, las relaciones de la variancia genética y la variancia GA en relación con sus respectivos errores standard fueron 1.24 y 1.92, respectivamente. Por eso, no pudieron detectarse diferencias entre los genótipos comparados en este tipo de ambientes. En las localidades de RC muy bajo, la relación de la variancia GA con respecto a su error estándar fue 6.0. Por lo tanto, detectar diferencias entre genótipos comparados en esos ambientes es imposible. Sucede lo mismo con la recomendación de un genotipo común para usarse en ambientes de RC muy bajo.

Esta clasificación ambiental permitió también una mejor comprensión de los genótipos en estudio. Ortiz e Izquierdo (manuscrito en preparación) encontraron que los cultivares híbridos BHN-39, Narita y Apl, y los de polinización libre 'Dina RPs' y 'Catalina' tuvieron mayor estabilidad fenotípica en RC; aunque 'Apl' y 'Catalina' obtuvieron esa estabilidad por una disminución del rendimiento.

La estabilidad fenotípica para RC en este estudio puede ser diferenciada en:

- Cultivares que en conjunto fueron sobresalientes en los cuatro grupos de ambientes: 'Narita' y 'BHN-39'.
- Cultivares que siempre tuvieron RC medios: 'Catalina' y 'Apl', aunque este último tuvo en RC bajo en ambientes con muy bajo rendimiento.
- Cultivares que en un ambiente de RC alto y medio tuvieron RC medios, pero en ambientes de bajo y muy bajo rendimiento sobresalieron por su RC, tal es el caso de 'Dina RPs' -esto indicaría el potencial de este cultivar para ambientes con RC bajo. Asimismo los híbridos Sunny y Luxor, con RC sobresalientes en ambientes de alto rendimiento, muestran una declinación tremenda en los ambientes con bajo RC, de acuerdo con lo expresado por Ortiz e Izquierdo (manuscrito en preparación), esto los hace adecuados para la producción de tomate en ambientes óptimos.

Las correlaciones entre las medias de RC de los cultivares de los cuatro grupos de ambientes (Cuadro 4) permiten establecer que la selección realizada en ambientes óptimos puede ser útil para determinar genótipos adaptados a condiciones subóptimas. Esto se manifiesta en el comportamiento de los híbridos BHN-39 y Narita. Estos dos híbridos mostraron estabilidad fenotípica para RC en ambientes de alto RC (Cuadro 5). El híbrido BHN-39 mostró rendimientos superiores a la media general, lo que indica su potencial para este tipo de ambientes.

Los parámetros de estabilidad, en el grupo de ambientes de RC alto, se correlacionaron con los obtenidos por Ortiz e Izquierdo (manuscrito en preparación) para el conjunto de los 20 ambientes utilizados en este ensayo regional. Esto indica que la selección por estabilidad fenotípica para el RC de tomate en ambientes óptimos puede ser útil en la identificación preliminar de genótipos con rendimientos estables en otros tipos de ambientes.

LITERATURA CITADA

1. ALLARD, R.; BRADSHAW, A. 1964. Implications of genotype-environmental interactions in applied plant breeding. *Crop Science*:503-508.
2. ANGELES, J. 1982. Metodología para evaluar la adaptación de cultivares. Tesis Ing. Estadística. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria, La Molina.
3. BUCIO ALANIS, L. 1966. Environmental and genotype-environmental components of variability. I. Inbred lines. *Heredity* 21:357-389.
4. BRADSHAW, A. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* 13:115-155.
5. CARVER, B.F.; SMITH, E.L.; ENGLAND JUNIOR, H.O. 1967. Regression and cluster analysis of environmental responses of hybrids and pureline winter wheat cultivars. *Crop Science* 27:659-664.

6. CUARTERO, J.; CUBERO, J.I. 1982. Genotype-environment interaction in tomato. *Theoretical Applied Genetics* 61:273-277.
7. DASKALOV, C.; GEORGIEV, C. 1976. New trends and results of the use of heterosis in tomato. In Congress of EDUCARPIA (7., 1974, Budapest). A. Lanossy, F.G.H. Lupton (Eds.) Proceedings. p. 303-305.
8. EBERHART, S.A.; RUSSELL, W.A. 1966. Stability parameters for comparison of varieties. *Crop Science* 6:36-40.
9. FINLAY, K.W.; WILKINSON, B.N. 1963. The analysis of adaptation in a plant breeding programme. *Australian Journal of Agricultural Research* 14:742-754.
10. FRANCIS, T.B.; KANNENBERG, L.W. 1978. Yield stability studies in short-season maize. I. A descriptive method for grouping genotypes. *Canadian Journal of Plant Science* 58:1029-1034.
11. HARDWICK, R.C.; WOOD, J.T. 1972. Regression methods for studying genotype-environment interactions. *Heredity* 28:209-222.
12. HILL, J. 1975. Genotype-environment interactions: A challenge for plant breeding. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)* 85:477-493.
13. IZQUIERDO, J.; MASSO, C.R.; VILLAMIL, J. 1980. Estabilidad en la producción de ocho cultivares de tomate para la industria. *Investigaciones Agronómicas* 1:47-51.
14. IZQUIERDO, J.; ORTIZ, R.; SINAY, R. 1988. Resultados de la prueba regional de cultivares de tomate 1987 - 1988. Santiago, Chile, FAO/RLAC. 149 p.
15. LIN, C.S.; BINNS, M.R.; LEFKOVITCH, L.P. 1986. Stability analysis: Where do we stand? *Crop Science* 26:894-900.
16. MARQUEZ, F. 1976. Obtención de un índice socio-agronómico de adaptabilidad para la selección de variedades de plantas cultivadas. In Reunión de Maiceros de la Zona Andina (7.). Memorias. Guayaquil, Ec. p. 35-47.
17. MESSIAEN, C.M. 1992. The tropical vegetable garden. London, MacMillan. 514 p.
18. NEVADO, M.; ORTIZ, R. 1985. Prueba de hipótesis en series de ensayos. *Agrociencia* 1:23-37.
19. NGUYEN, H.F.; SLEPER, C.A.; HUNT, K.L. 1980. Genotype x environment interactions and stability analysis for herbage yield of tall fescue synthetics. *Crop Science* 20:221-224.
20. PLAISTED, R.L.; PETERSON L. 1959. A technique for evaluating the ability of selections to yield consistently in different locations and seasons. *American Potato Journal* 36:381-385.
21. POSYA, V.W.; GARTON, R.; COURTNEY, W.H.; METCALF, J.G.; MUEHMER, H. 1986. Genotype-environment interactions in processing tomatoes in Ontario. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 11:293-297.
22. POWERS, L. 1944. An expansion of Jones' theory for the explanation of heterosis. *American Nature* 78:275-280.
23. SHUKLA, B.K. 1972. Some statistical aspects of partitioning genotype-environmental components of variability. *Heredity* 29:237-245.
24. STOFELLA, P.J.; BRYAN, H.H. HOWE, H.H., SCOTT, J.W.; LOCASCIO, S. L.; OLSON, S.M. 1984. Stability differences among fresh market genotypes. I. Fruit yields. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 109:615-618.
25. TAI, G.C.C. 1971. Genotypic stability analysis and its applications to potato regional trials. *Crop Science* 11:184-190.
26. TAI, G.C.C. 1975. Analysis of genotype-environment interactions based on the method of path coefficient analysis. *Canadian Journal of Genetic Cytology* 17:141-149.
27. TAI, G.C.C. 1979. Analysis of genotype-environments of potato yield. *Crop Science* 19:434-438.
28. TAI, G.C.C.; YOUNG, D.A. 1980. A biometric model for predicting the performance of potato clones in different environments. In Utilization of the genetic resources of the potato. International Potato Center III. Lima. p. 184-203.
29. TINDALL, H.D. 1983. Vegetables in the tropics. Basingstoke, English Language Book Society, MacMillan. 533 p.
30. WESTCOTT, B. 1987. A method of assessing the yield stability of crop genotypes. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)* 108:267-274.
31. WREICKE, G. 1962. Über eine methode zur erfassung der ökologischen streubreite in feldversuchen. *Z. Pflanzensuechtung* 47:92-96.
32. YATES, F.; COCHRAN, W.G. 1933. The analysis of groups of experiments. *Journal of Agricultural Science* 28:556-580.
33. ZOBEL, R.W.; WRIGHT, M.J.; GAUCH, H.G. 1988. Statistical analysis of a yield trial. *Agronomy Journal* 80:338-393.

Grazing Management and Soil Salinization in Two Pampean Natraqualls¹

R.S. Lavado*, G. Rubio*, M. Alconada**

ABSTRACT

Soil salinization is the result of the combined effect of several site characteristics. They can be reduced to three different factors: a) environment, b) soil properties and c) land use impact. In order to study the effect of grazing on topsoil salinization, two Natraqualls located in two basins of the Flooding Pampa (Argentina) were monitored during 30 months. Natraqualls are the secondmost important great group of soils of the region, and are covered by grazed natural grasslands. The experiment had three treatments: continuous grazing, no grazing, and rotative grazing. The soils, located between the towns of Verónica (northeast) and Rauch city (southwest), showed different properties and water table regimes. Salts ascend to the soil surface by pulses, under continuous grazing conditions. It is concluded that topsoil salinization due to grazing can be considered a generalized process, which occurs regardless of characteristics of the soil, water table regime and other environmental features. Rotative grazing showed no heavy salt fluxes toward soil surface, and resembled the no-grazing treatment. Potentially, this could be a non-deteriorating grazing management technique in similar soils.

RESUMEN

La salinización de los suelos es el efecto combinado de diferentes características que se pueden agrupar en tres niveles diferentes: medio ambiente, propiedades del suelo e impacto del uso de la tierra. Se controlaron dos natracualls en dos cuencas de La Pampa deprimida (Arg.), durante 30 meses, con el fin de estudiar el efecto del pastoreo en la salinización del suelo superficial. Los natracualls son el segundo gran grupo de suelos de la región en orden de importancia y están cubiertos por pastizales naturales pastoreados. Se plantearon tres tratamientos: pastoreo continuo, no pastoreo y pastoreo rotativo. Los suelos, cerca de Verónica (noreste) y de Rauch (suroeste), presentaban diferentes propiedades y un régimen de agua freática propio. Las sales ascendieron a la superficie de los suelos por pulsos, bajo la condición de pastoreo continuo. Se concluyó que la salinización de los horizontes superficiales por el pastoreo puede considerarse como un proceso generalizado, independientemente de algunas propiedades de los suelos, del régimen de agua freática y de otras características del ambiente. El pastoreo rotativo no presentó importantes flujos de sales hacia la superficie del suelo, por lo que se asemejó al tratamiento no pastoreado. Esto podría ser la base para una técnica de manejo del pastoreo sin deterioro de tales suelos.

INTRODUCTION

Soil salinization, which takes place under many condition, has been the object of intense research for years. Salinization is the result of the combined effect of several site characteristics (10,14). They can be grouped into three different categories: **environment**, which includes the regional geology and geomorphology; climate (rainfall intensity, distribution, and evapotranspiration), and hydrology (the water table regime, the main supplier of salts to the soil); **soil properties**, which include components such as clay and organic matter, pore-size distribution, and lithologic discontinuities; and **the impact of land use**. For the last, grazing has been reported to be a causal factor of the salinization processes in different ecosystems,

including marshes (1, 4), shrublands and woody areas (7, 15, 22, 24), and grasslands (3). In grasslands at the center of the flooding pampa in Argentina, the salinization process was studied in a Natraquoll (13).

The flooding pampa is large (about 9 000 000 ha), with a predominance of salt-affected soils, generally resulting from a high water table (11, 17). Most of the salt affected soils of the region have natric horizons, Natraquolls being the most extensive and widespread soils throughout the region. Natraqualls are next great group, covering more than 1 000 000 ha. Over such a large area, the Natraqualls show variations in their properties and components (8).

The region is still mostly covered by native grasslands rich in halo-hydrophilous species. Soil halomorphism was found to be the a major factor affecting natural grasslands, and it was found to be responsible for the areal distribution of herbaceous communities, as well as their composition and properties (2). These grasslands are devoted to production of beef cattle and subjected to continuous grazing year-round (23). The

¹ Received for publication 9 September 1992.

* Departamento de Suelos, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Avenida San Martín 4453, 1417 Buenos Aires, Arg

** Departamento de Suelos, Ministerio de Asuntos Agrarios, Avenida 32 949, 1900 La Plata, Arg

continuous grazing promotes salt rise toward the upper soil horizons through a decrease in soil cover and an increase in soil water evaporation (13). The salts rise by a combination of diffusion in deep horizons and convection in the upper ones (14). There are attempts to improve grazing management in the area, including rotative grazing (18). However, no previous accounts relating this technique to soil salinization are registered.

The aims of this paper were to study 1) the effects of grazing on the salinization and alkalization of two Natraqualfs located in two different basins of the flooding pampa presenting contrasting physical and hydrological properties and 2) to evaluate an alternative grazing management technique in relation to these processes.

MATERIALS AND METHODS

Study Sites

The study was carried out in two flooding pampa sites 210 km apart. The first was located near the town of Veronica, to the northeast (upthrown block basin), and the second near the city of Rauch, in the southwest (calcareous crust basin). Both sites and their geomorphological units are located as shown in Fig. 1. The soils were a typical Natraqualf in the northern site and a

mollic Natraqualf in the southern site. Some properties of both soils, and the analytical methods used, are shown in Table 1.

In the upthrown block basin, most Natraqualfs have vertic characteristics in deep horizons, and show an average slope of 0.2% - 0.3%; they are also periodically waterlogged and exhibit some sheet erosion. The annual rainfall (average of 80 years) is around 950 mm. It followed the usual pattern in the temperate Pampean region: uneven distribution with no seasonality. Sala *et al.* (19) found that the phreatic water discharges toward Samborombon Bay (Fig. 1), but that evapotranspiration was considered the main discharge factor.

Gonzalez and Laurencena (16) and Sala *et al.* (19) found that this discharge area showed few fluctuations in its water table. The occurrence of soluble sodium carbonates and a high pH is characteristic of phreatic waters, and is the cause of the high sodicity of most soils of the area (11). In the calcareous crust basin, the soils have no vertic features and show average slopes of 0.1% - 0.2%. They are developed over a *caliche* crust located 1.0-1.5 m deep. Most of the area is subjected to short-term waterlogging during winter. No erosion is observed. Annual rainfall (average of 80 years) is around 830 mm. There is no accurate information on the behavior of the water table. Sala *et al.* (20) reported regional underground fluxes toward the eastern part of the flooding pampa.

Table 1. Characteristics of both Natraqualfs.

Site	Horizon	Depth (cm)	pH ^A	Organic ^B C (%)	Clay ^C (%)	Silt (%)	Sand (%)	Lime ^D (%)
Veronica	A1	00-16	8.5	0.95	24.1	65.2	10.7	0
	B1	16-23	9.3	0.44	42.9	51.4	5.7	0
	B21	23-36	9.3	-	61.9	32.4	6.6	0
	B22	36-69	9.2	-	49.4	41.8	8.8	0
	B31	60-115	8.8	-	39.8	50.3	9.8	0
Rauch	A1	00-09	8.2	1.67	18.8	29.0	54.1	0.03
	B1	10-19	8.9	0.55	17.4	40.7	41.9	0.63
	B21	19-42	9.0	-	55.0	20.1	24.9	0.97
	B22	42-56	9.0	-	39.6	34.0	26.4	1.11
	B31	56+	9.3	-	21.6	30.0	48.4	4.82
	Caliche crust:	103 cm						

A) pH in paste (16).

B) Organic carbon by Walkley & Black method (16).

C) Particle size analysis by pipette method (9).

D) Lime by Allison method (16).

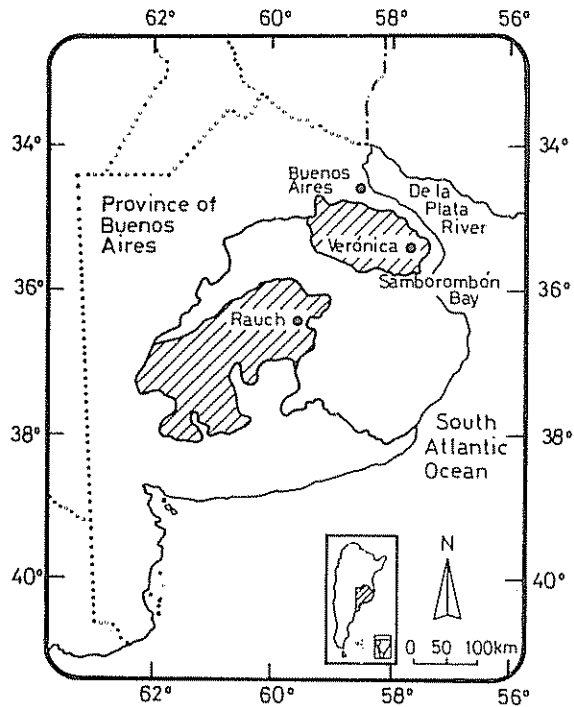


Fig. 1. Limits of the flooding pampa. Locations studied, areal distribution of each basin.

grassland rest. The grazing pulse is applied four times a year.

Treatments b) and c) started from a continuously grazed field. In both sites, plowing data are unknown. In Verónica, the study began in July 1986 and in Rauch April 1987, lasting 30 months in both sites.

The following analyses were performed: soil water content (gravimetric), pH in paste, and electrical conductivity (EC) in soil saturation extract. Soluble cations by atomic absorption spectrophotometry and soluble anions by titrimetry were also determined (16). Sodium adsorption ratio (SAR) was calculated from soluble Ca, Mg and Na data (16). For both locations water infiltration rate (IR), double ring method, was determined (9) and processed using the Kostikov equation. The depth of the water table was recorded and samples were extracted. In the groundwater, pH, EC and soluble anions and cations were also determined. The results were statistically analyzed by ANOVA. Rainfall and the potential evapotranspiration (Thornthwaite) data were obtained from records of the National Meteorological Service.

Sampling and Analysis

In each location, the A1 horizon (where most grass roots are located, according to Doll and Deregibus) (15) and the B21t horizon, the more clayey natric one, were sampled seasonally. An average of eight samples in the top horizon and four in the subsoil were taken on each date. Other soil horizons were sampled with less frequency.

Three treatments were applied in both sites:

- Continuous grazing. This is the usual way livestock is raised in the region. This treatment began in an undefined past, as with the European settlements pushed the frontier toward the south in the last century.
- No grazing; enclosure of 2 ha. After several years of grazing exclusion, these grasslands tend to show attributes of the original cover (21). It could be considered to resemble the behavior of the original soil.
- Rotative grazing. This consists of short periods of high grazing pressure, followed by long periods of

RESULTS

Water dynamics

Annual rainfall was below average in Verónica during 1986 (874.0 mm), but was normal in 1987 (958.0 mm). Precipitation was well above average (1418.5 mm) during 1988, but within recorded extremes. In Rauch, rainfall in 1987 and 1988 was above the historical mean (1128.0 mm and 948.0 mm, respectively), but in 1989 it was below the average (722.0 mm). The potential evapotranspiration followed a more regular yearly pattern. The maximum values were 124 mm and 126 mm in January, and the minimum were 21 mm and 18 mm in June, in Verónica and Rauch respectively.

In Verónica, the water table was found at a relatively shallow depth (average 1.15 m) as in other discharge areas in this part of the region. There was no direct relation between rainfall and water table depth (Fig. 2). Electrical conductivity of this water was almost constant (average 1.20 dS/m). In Rauch, the water table depth and salt content showed extreme variations above the shallow impervious *caliche* crust; as of September 1988, the observation well did not show water (Fig. 2).

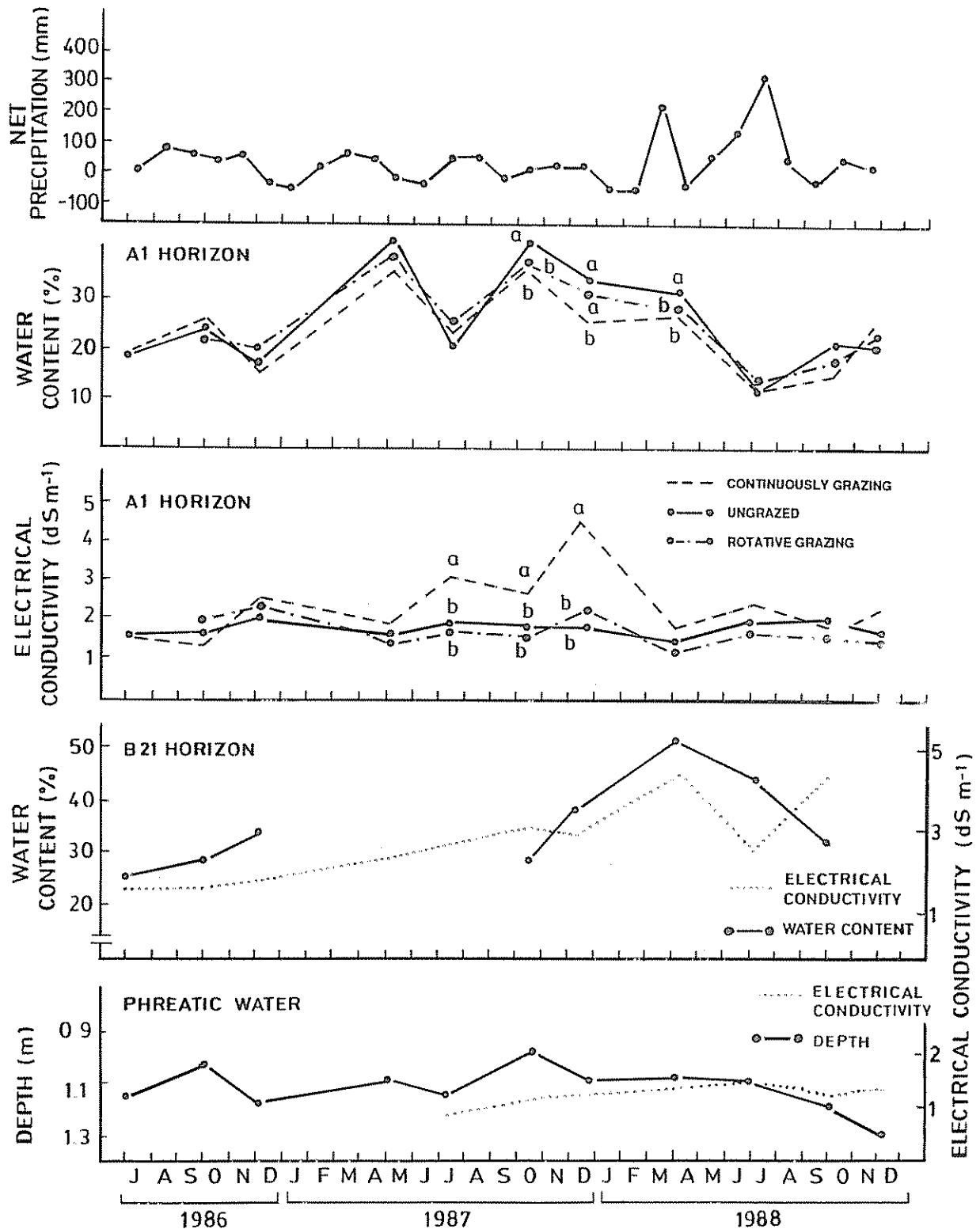


Fig. 2. Net precipitation (mm); water content (%) and electrical conductivity (dS/m) in A1 in the three treatments; average water content (%) and electrical conductivity (dS/m) in the B21 horizons; depth (cm) and electrical conductivity (dS/m) in the water table, through the study period. Location: Veronica.

Letters mean statistical differences among treatments, at each date.

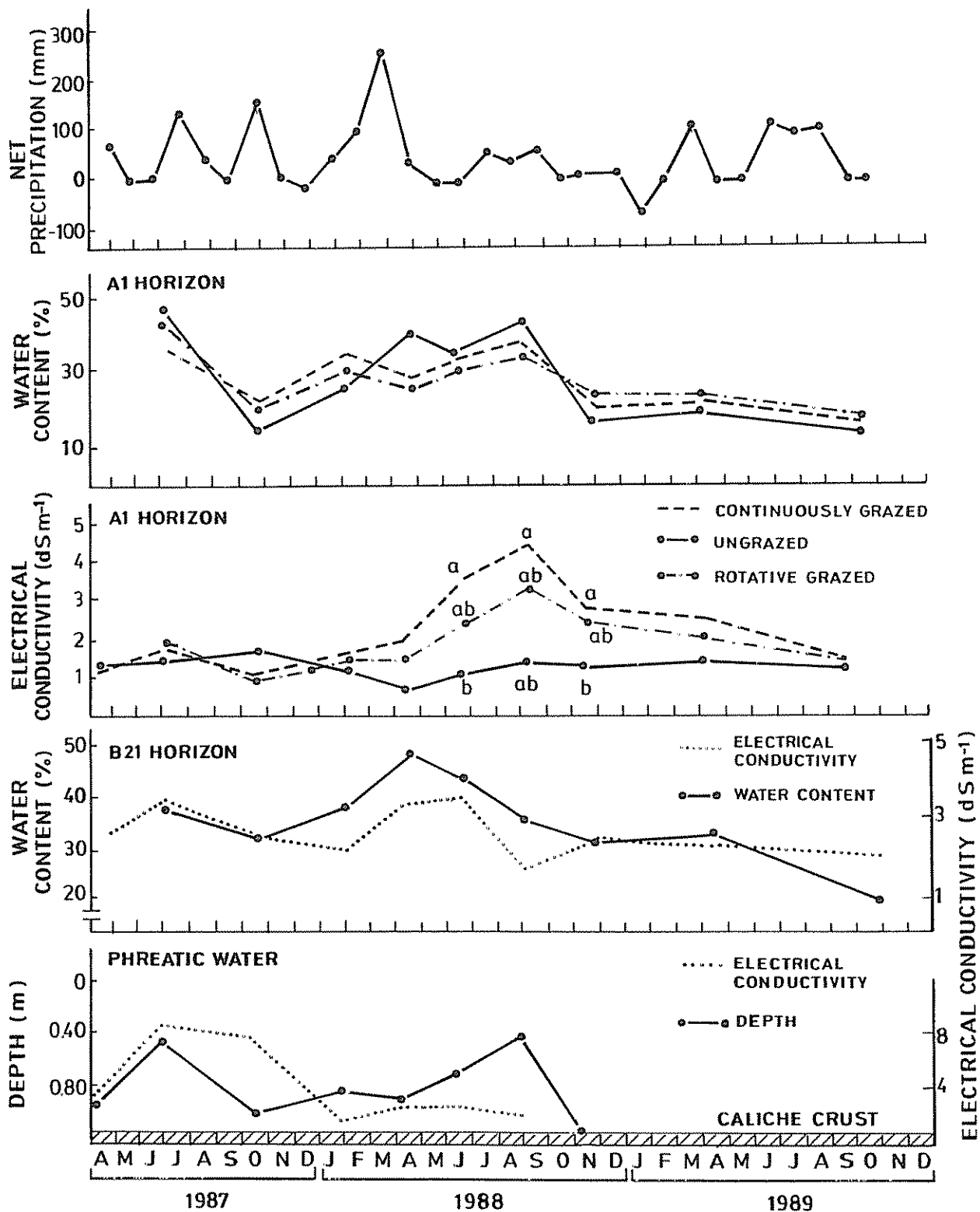


Fig. 3. Net precipitation (mm); water content (%) and electrical conductivity (dS/m) in A1 in the three treatments; average water content (%) and electrical conductivity (dS/m) in the B21 horizons; depth (cm) and electrical conductivity (dS/m) in water table, through the study period. Location: Rauch. Letters mean statistical differences among treatments, at each date.

At Veronica, soil water content was not generally related to either the rainfall or the net precipitation (difference between rainfall and potential evapotranspiration (Fig. 2). For instance, the lowest soil water content was observed during the wet 1988 winter. The low IR found in this site (averaging 0.29 cm/h during the study period) could justify the absence of such relationship. On three continuous sampling dates (October 1987 to April 1988), significant differences in soil water content for the treatments were found, the grazed one having the lowest values. The rotative grazing was close to no-grazing treatments (Fig. 2). In Rauch, the annual evolution in soil water content (Fig. 3) was not related to the net precipitation. No significant differences in water content between the three grazing treatments were found in this location. In this site, the IR showed large variations within treatments (ranging from 0.07 cm/h to 0.61 cm/h). The B21 horizon also did not show differences in water content between treatments (Fig. 3).

Salinization processes

Considering the A1 horizon of the soil at Veronica, only the EC of the grazing treatment showed significant variations between dates (Fig. 2). On three dates, the EC under grazing was significantly higher than in the no-grazing treatment. In the rotative grazing treatment, there were also no salt fluxes to the soil surface. The EC of the B21 horizon (Fig. 2) showed no differences

between treatments, though a trend to increase was found during the studied period. The cause of this increase, however, is not clear at present.

In the Rauch site, the A1 horizon under the no-grazing treatment showed no changes in EC with time, but the top-soil of the area under continuous grazing showed increases in EC on some dates (Fig. 3). Rotative grazing was intermediate between the other two treatments. The B21 horizon did not show differences between treatments, but showed variations in EC, with no definite trend (Fig. 3).

Alkalinity characteristics

The phreatic water at Veronica is rich in bicarbonates and sodium (average 14.79 mEq/l and 16.26 mEq/l, respectively) and contains soluble carbonates (average 0.84 mEq/l). Other anions and cations were found in small concentrations. In agreement with its chemical composition, the ground water showed high SAR (52.8), and pH was also high, usually around 8.4 - 8.5. At Rauch, the chemical composition average of samples taken in 1988 showed no predominance among HCO₃⁻, CO₃⁼ and SO₄⁼ (4.75 mEq/l; 4.43 mEq/l and 5.23 mEq/l, respectively). Sodium predominated among cations (16.26 mEq/l). The rest of the ions were found in small concentrations. The SAR average was 27.20 and the pH of this groundwater varied between 8.2 - 8.4.

Table 2. Sodium adsorption ratio (SAR) in A1 horizons, through the study period.

Date	Veronica			Date	Rauch		
	Cont. grazed	Ungrazed	Rotat. grazed		Cont. grazed	Ungrazed	Rotat. grazed
10-86	30.5 a	30.4 a	—	04-87	7.8 a	8.6 a	—
12-86	51.5 a	49.1 a	48.8 a	07-87	19.9 a	11.9 a	—
05-87	65.6 a	47.8 b	38.2 b	02-88	39.5 a	24.2 ab	16.2 b
07-87	68.9 a	51.9 b	34.7 b	06-88	28.0 a	13.3 b	20.7 ab
10-87	62.3 a	40.8 b	35.6 b	04-89	17.4 a	13.8 ab	11.4 b
12-87	82.5 a	49.2 a	38.2 a	10-89	8.1 a	5.2 a	7.6 a
04-88	41.6 a	44.2 a	48.4 a				
07-88	50.6 a	50.0 a	44.7 a				
10-88	47.4 a	42.4 a	39.6 a				
12-88	37.7	38.9	36.8				

Different letters mean statistical differences ($P < 0.05$) among treatments (at each location), at each date.

In Veronica, the SAR values of the A1 horizon were very high, Table 2). In the grazing treatment, there were statistically significant peaks parallelling those of EC, and the correlation between both parameters was high ($r: 0.79 P: 0.05$). The SAR and pH values in all the deep horizons were high. In Rauch, SAR of the A1 horizon showed lower absolute values (Table 2), and it was less related to EC. All the B horizons had higher pH values (around 9.0), similar to Veronica, but with lower SAR values (average 24). At both sites, the SAR values of the A1 horizons under rotative grazing was close to that of the no grazing treatment (Table 2).

with soil water content differences between treatments in that season, low net precipitation and the increasing salt content in the bottom of the profile (Fig. 2). In a parallel study on the effect of grazing on the grassland vegetation, differences in accumulation of litter and standing dead material among treatments were found (Deregibus and Ansin, in preparation). On average, bare soil accounted at that time for 5% and 35% of the surface in the non-grazed enclosure and in the grazed field, respectively. There were some seasonal variations in soil cover, and the lower figures were recorded in autumn.

DISCUSSION

At Veronica, salinity increased in the top-soil of the grazed treatment in spring 1987, and was coincident

These results are in agreement with other local studies, which show large differences in soil coverage according to the grazing history. Lavado and Taboada (13) compared a grazed *versus* a non-grazed situation, and observed that water evaporation was ten times that

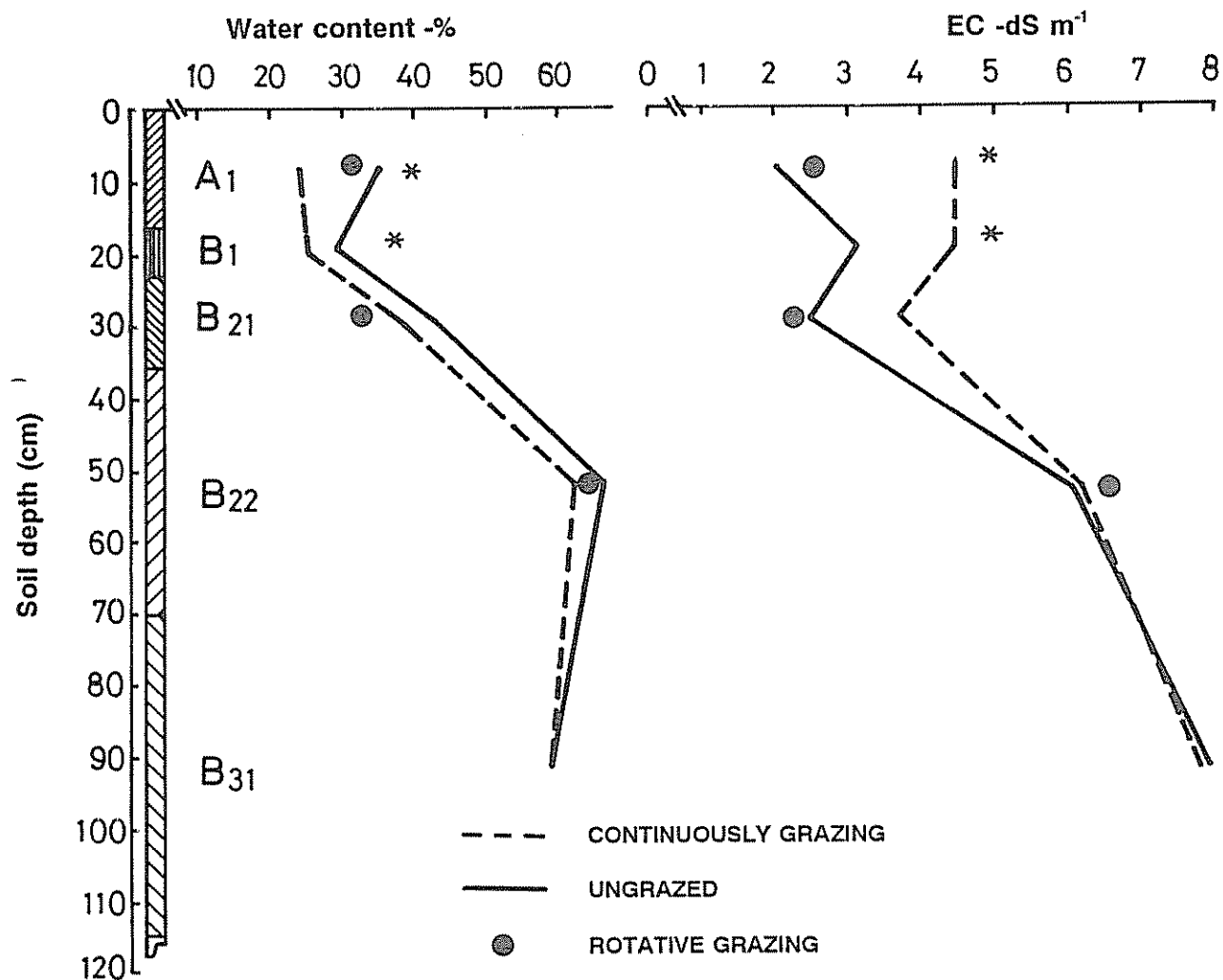


Fig. 4. Soil water and salt changes at Veronica, summer 1987. Letters mean statistical differences among treatments.

of a non-grazed soil. A direct consequence of this was an increase in the flux of water and salts from deeper horizons. Fig. 4 shows changes in the water and salt regimes along the whole soil profile. The decrease in water content in the top horizons of the grazed field is related to a higher evaporation rate. These results indicate a movement of water towards the upper soil horizons and the deposition of salts in top-soil under grazing. In summer 1987, horizons below the B2t horizon in the three treatments had the same water and salt content.

At Rauch, on two dates (July 1987 and September 1988), The water table in the observation wells was near the surface (Fig. 2). However, the water table in the field was confined by the B2 horizons, which acted as a barrier, as it was found in other soils of the region (14). In a parallel study, Rossi *et al.* (18) found changes in live and dead biomass between the grazed and ungrazed treatments.

The resultant percentage of bare soil was 30% in the grazed field and 7% in the enclosure. This represents a seasonal variation similar to that observed in Veronica, where salty peaks also appeared in the less-covered soil. However, it can not be related to the soil water content, since it was equivalent in both treatments. The salt ascent was found in winter-spring in this soil, but the salt ascent period coincided with a period of lower or even negative net precipitation (Fig. 3). Topsoil salinization took place in a period with very shallow phreatic water, but with low salt content. Salts transported by upward moving water came from the salinized deep horizons (Fig. 3) which were more saline than the phreatic water on this date (Fig. 2). In both locations, the IR played no important role and the water evaporation from bare soil was the main cause of soil salinization. The rotative grazing area behaved similarly to the no-grazing treatment, or was intermediate between it and the continuous grazing.

In both locations, differences in SAR among treatments were observed earlier, than differences in EC; no explanation is for this offered. The large changes in SAR found in Veronica top-soil did not affect soil pH; it averaged 8.4. In Rauch, the average pH of the A1 horizon was 8.2. In this location, no differences were found in the soil for different dates and treatments. In both locations, the SAR in rotative grazing was also close to the values observed for the no-grazing treatment.

CONCLUSIONS

In Veronica, salt ascended to the soil surface by pulses. The mechanism of salt movement was convection from the deep horizons, under a permanent shallow water table. The increase in salt content in the grazed topsoil was related to a decrease in water content. In Rauch, salts rose from salinized deep horizons, but only when the water table was near the soil surface. There were no differences in water content between treatments in this location.

Despite environmental and soil differences, grazing was a key factor affecting top soil salinization. In both soils, the salt content of the A1 horizon in areas under continuous grazing showed episodic increases in salt content. Grazing initiates the process through the reduction of the soil cover and the increase of water evaporation. These salt pulses, together with those previously found in a Natraquoll in a nearby basin and those resulting from the soil salinization process, allow us to conclude that salinization of the top horizons could be generalized as another effect of grazing on soils.

The rotative grazing area behaved similar to than the no-grazing treatment or was intermediate between it and continuous grazing. This is an important finding because, seen from the aspect of salinity, rotative grazing could be the basis of an ecologically sound grazing management technique.

LITERATURE CITED

1. BAKKER, J.P. 1985. The impact of grazing on plant communities, plant population and soil conditions on salt marshes. *Vegetation* 62:391-398.
2. BERASATEGUI, I. A.; BARBERIS, I. A. 1982. Los suelos de las comunidades vegetales de la región Castelli-Pila, Depresión del Salado (Buenos Aires, Arg.). *Facultad de Agronomía* 3:13-25.
3. CHIANETON, K.J.; LEON, R.J.C. 1989. Heterogeneidad espacial de la comunidad en sitios pastoreados y no pastoreados en un pastizal de la Pampa deprimida. In *Congreso Latinoamericano de Ecología* (1). Actas. Montevideo. Uru.
4. DIJKEMA, K.S. 1990. Salt and brackish marshes around the Baltic Sea and adjacent parts of the North Sea: Their vegetation and management. *Biol. Conser.* 51:191-209.
5. DOLL, U.M.; DEREGIBUS, V.A. 1986. Efecto de la exclusión del pastoreo sobre el subsistema subterráneo de un pastizal templado húmedo. *Turrialba* 36:337-344.

6. GONZALEZ, N., LAURENCENA, P. 1988. Cuenca hidrológica experimental arroyo "El Pescado": Resultados preliminares. In Jornadas Geológicas Bonaerenses (2.). Actas. p. 641-649.
7. GRAETZ, R.D.; TONGWAY, D.J. 1986. Influence of grazing management on vegetation, soil structure and nutrient distribution and infiltration of applied rainfall in a semiarid chenopod shrubland. *Australian Journal of Ecology* 11:347-360.
8. INTA (INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA). 1990. Atlas de suelos de la República Argentina 1:83-202.
9. KLUTE, A. (Ed.). 1986. *Methods of soil analysis. I*. Madison, American Society of Agronomy.
10. LAVADO, R.S. 1978. Algunas causas en la variabilidad en el contenido salino de un salotide pampero y su influencia en el muestreo. *Turrialba* 28:315-324.
11. LAVADO, R.S. 1983. Evaluación de la relación entre la composición química del agua de lluvia y el distinto grado de salinidad y sodicidad de distintos suelos. *Revista de la Facultad de Agronomía (Arg.)* 4:135-139.
12. LAVADO, R.S.; TABOADA, M.A. 1985. Influencia del pastoreo sobre algunas propiedades químicas de un Natraquoll de la Pampa deprimida. *Ciencia del Suelo* 3:102-108.
13. LAVADO, R.S.; TABOADA, M.A. 1987. Soil salinization fluxes as an effect of grazing in a native grassland soil: The flooding pampa, Argentina. *Soil Use and Management* 3:143-148.
14. LAVADO, R.S.; TABOADA, M.A. 1988. Water, salt and sodium dynamics in a Natraquoll in Argentina. *Catena* 15:577-594.
15. NEMOTO, M.; PANCHABAN, S. 1991. Influence of livestock grazing on vegetation in a saline area in northeast Thailand. *Ecol. Res.* 6:265-276.
16. PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (EDS.) 1982. *Methods of soil analysis. II*. 2 ed. Madison, Wisconsin Agronomy no. 9.
17. PARUELO, J.M.; SALA, O.E. 1990. Caracterización de las inundaciones en la Depresión del Salado (Buenos Aires, Argentina): Dinámica de la capa freática. *Turrialba* 40:5-11.
18. ROSSI, J.L.; SALGADO, L.P.; CUESTA, R.A.; DEREGIBUS, V.A. 1989. Efecto del pastoreo sobre la productividad primaria de un pastizal de la pampa deprimida. *Revista Argentina de Producción Animal* 9:44-45.
19. SALA, J.M.; GONZALEZ, N.; HERNANDEZ, M. 1978. Efectos de una barrera hidráulica natural en las aguas subterráneas de la Bahía de Samborombón. *Obra Centenario del Museo de la Plata* 4:153-166.
20. SALA, J.M.; GONZALEZ, N.; KRUSE, E. 1984. Generalización hidrológica de la provincia de Buenos Aires, Argentina. In *Olavarría Symposium Hydrology on Large Fatlands. Proceedings* 2:33-1009.
21. SALA, O.E.; OESTERHELD, M.; LEON, R.J.C.; SORIANO, A. 1986. Grazing effect upon plant community structure in subhumid grassland of Argentina. *Vegetation* 67:27-32.
22. SOKOLENKO, E.A. (ED.). 1986. *Water and salt regimes of soils: Modelling and management*. Rotterdam, Balkem.
23. SORIANO, A. 1991. Río de la Plata grasslands: Ecosystems of the world. In *Natural grasslands*. R.T. Coupland (Ed.). Amsterdam Elsevier. v. 8. p. 367-407.
24. TUNSTALL, B.R.; WEBB, A.A. 1981. Effects of land use on the solodic soils of the poplar box lands. *Australian Rangeland Journal* 3:5-11.

Efecto de la Concentración de Nutrientos en el Desarrollo y Fijación de Nitrógeno de *Azolla filiculoides*¹

I. Vidal*, L. Longeri*, M. Leal*

ABSTRACT

The effects of P, K, Ca, Mg and Fe concentrations in the growth rate and nitrogen fixing capacity of a strain of *Azolla filiculoides*, collected in Chillán, Chile, were studied under greenhouse conditions. The results showed that the optimum foliar levels correspond to P = 0.16%, K = 1.3% - 7.0%, Ca = + 0.25%, Mg = + 0.15%, Fe 250 ppm - 550 ppm and the optimum concentrations in the nutrient solution were P = + 0.92 ppm, K = 5 ppm - 125 ppm, Ca = + 125 ppm, Mg = + 16 ppm and Fe = 0.25 ppm - 0.55 ppm.

INTRODUCCION

El helecho flotante denominado *A. filiculoides* Lam. es posible encontrarlo en Chile en esteros, lagunas, aguas estancadas y arrozales (17). Durante los últimos años, esta planta ha atraído la atención de científicos, por su rápido crecimiento y habilidad para fijar el N atmosférico, gracias a su asociación simbiótica con una cianobacteria (*Anabaena azollae* Stras.) y por su posibilidad de uso como biofertilizante en arroz (7, 11, 14). *Azolla* posee también un tejido rico en minerales y proteínas, lo que hace posible utilizarlo como forraje y alimento para aves (4).

En condiciones óptimas *Azolla* dobla su biomasa en dos o tres días, y fija de 2 kg a 4 kg N/ha/d (16, 18) y contiene de 4% a 6% de N en su tejido seco. Entre 25 d y 35 d, *Azolla* puede fácilmente fijar suficiente N para producir 1840 a 3680 kg/ha de arroz (9).

Azolla ha sido usada como biofertilizante, en forma extensiva, solamente en China y Vietnam. Se han

COMPENDIO

Se determinó, en condiciones de invernadero, el efecto de diferentes concentraciones de los nutrientes P, K, Ca, Mg y Fe sobre la tasa de crecimiento y capacidad de fijación de N en una cepa de *Azolla filiculoides* recolectada en Chillán, Chile. Los resultados mostraron que los niveles foliares óptimos corresponden a P = 0.16%; K = 1.3% - 7.0%; Ca = + 0.25%; Mg = + 0.15%; Fe = 250 ppm - 550 ppm, y las concentraciones más adecuadas en el medio nutritivo fueron P = + 0.92 ppm; K = 5 ppm - 125 ppm; Ca = + 125 ppm; Mg = + 16 ppm y Fe = 0.25 ppm - 0.55 ppm.

Palabras clave: *Azolla*, fijación de nitrógeno, nutrientes, biofertilizante.

efectuado investigaciones en países de Asia, Africa y Norteamérica y hay considerable interés por su uso en Latinoamérica (12).

El objetivo del presente trabajo es determinar el efecto de los nutrientes P, K, Ca, Mg y Fe sobre el crecimiento y fijación de nitrógeno de la especie *A. filiculoides*.

MATERIALES Y METODOS

Esta experiencia se realizó en condiciones de invernadero, durante el período de octubre de 1987 a febrero de 1988. Plantas de *Azolla*, correspondientes a la especie *A. filiculoides*, se recolectaron en un arrozal ubicado 3 km al noroeste de Chillán (36° 34' latitud S y 72° 06' longitud O). Este ecotipo corresponde a la clave UCA-3 de la colección de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción.

Inicialmente, las plantas se reprodujeron vegetativamente en una solución Hoagland al 40%, libre de N, que contenía la siguiente composición KH₂PO₄, 5.45 mg/0.1 l; KCl, 14.9 mg/0.1 l; CaCl₂ x 2H₂O, 29.3 mg/0.1 l; MgSO₄ x 7H₂O, 19.7 mg/0.1 l; Sequestrene 330 Fe, 0.25 mg/0.1 l; MnSO₄ x H₂O, 0.003 mg/0.1 l; Na₂MoO₄ x 2H₂O, 0.015 mg/0.1 l; H₃BO₃, 0.5 mg/0.1 l; ZnSO₄ x 7H₂O, 0.05 mg/0.1 l; CuSO₄ x 5H₂O, 0.02 mg/0.1 l; CoCl₂ x 6H₂O, 0.05 mg/0.1 l. El pH de la solución se

¹ Recibido para publicación el 6 de julio de 1992.

Parte del Proyecto 91-0356 fue financiado por el Fondo de Investigación Científica y Tecnológica (FONDECYT), Chile.

* Depto. de Suelos, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Casilla 537, Chillán, Chile.

ajustó en un valor de 5.5, usando NaOH 0.1 N. Los requerimientos de *Azolla* fueron estudiados, suprimiendo individualmente del medio los siguientes elementos: P, K, Ca, Mg y Fe. Con el fin de determinar la concentración óptima para el crecimiento y el nivel crítico de cada elemento en el tejido de la planta, esta se cultivó en diferentes soluciones con concentraciones crecientes de cada uno de los elementos.

Las concentraciones usadas fueron las siguientes:

P: 0 - 0.2 - 0.8 - 3.2 - 12.8 ppm

K: 0 - 1 - 5 - 25 - 125 ppm

Ca: 0 - 1 - 5 - 25 - 125 ppm

Mg: 0 - 0.25 - 1 - 4 - 16 ppm

Fe: 0 - 0.25 - 0.5 - 1 - 1.5 - 2 ppm

Cada medio se inoculó con 1 g de *Azolla* fresca, colocada en depósitos plásticos de 195.5 cm², con capacidad para 900 ml de solución nutritiva. Las soluciones fueron cambiadas semanalmente. Con el propósito de estabilizar el material, se efectuaron dos cultivos sucesivos en un período de 15 d, sometidos a las diferentes concentraciones de los nutrimentos estudiados. Posteriormente se realizó la experiencia, utilizando como inóculo 1 g de peso fresco por cada depósito, con cuatro repeticiones por tratamiento; al cabo de 15 d de desarrollo, se evaluó el peso fresco, peso seco, fijación de N y tiempo de duplicación. Se analizó, además, la concentración en la planta de cada uno de los nutrimentos evaluados.

La actividad de la enzima nitrogenasa se determinó mediante la técnica de reducción de acetileno descrita por Hardy *et al.* (5). Para el análisis de N se usó el método semimicroKjeldahl (2) y nesslerización directa (8). La concentración de P, K, Ca, Mg y Fe en el tejido se precisó después de una digestión nitro-perclórica, entonces el P se evaluó por colorimetría, el Ca, Mg y Fe por absorción atómica y el K por fotometría de llama.

La tasa de crecimiento de *Azolla* se midió por medio del tiempo de duplicación y la tasa de crecimiento relativo (TCR), la cual corresponde a los gramos de peso fresco generado por cada gramo de inóculo durante un día y se calcula de acuerdo con Hunt (6), mediante la siguiente relación:

$$TCR = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1}$$

Donde:

W_2 = peso de la planta al tiempo final;

W_1 = peso de la planta al tiempo inicial;

t_2 = tiempo de crecimiento (final) en días;

t_1 = tiempo inicial en días.

Para el cálculo del tiempo de duplicación se usa la fórmula:

$$t = \frac{\ln 2}{TCR}$$

Donde:

t = tiempo de duplicación (d);

TCR = tasa de crecimiento relativo (g/g/d).

RESULTADOS Y DISCUSION

Fósforo

El comportamiento de *Azolla* en los distintos niveles de P, se presenta en la Fig. 1 y en el Cuadro 1. El desarrollo de la planta se afectó, en mayor grado, con una concentración igual o menor de 0.2 ppm de P en el medio, alcanzando una producción inferior a un 50% del potencial máximo. En estas condiciones, se presentaron síntomas de deficiencia, caracterizados por una coloración rojiza que comienza en el centro de las hojas, y que se extiende, luego, hacia el margen. Junto con esto, las raíces también tomaron esta tonalidad y crecieron largas y muy frágiles, tendiendo fácilmente a separarse de la planta.

En los medios con 0.8 ppm, 3.2 ppm y 12.8 ppm de P, se encontraron las plantas con mejor desarrollo, y con pocas variaciones en los indicadores de rendimiento y fijación de nitrógeno. El nivel crítico de P se define como aquella concentración en la que se alcanza el 90% de la producción máxima, y corresponde a 0.16% de P en el tejido, valor muy similar al nivel crítico de 0.15% informado por Ali y Watanabe (1), asociado con una concentración en el medio de 0.92 ppm de fósforo. Esto concuerda con lo declarado por Yatazawa *et al.*, (21),

Cuadro 1. Efecto de diversos niveles de P, K, Ca, Mg y Fe en el crecimiento de *A. filiculoides*, fijación de nitrógeno y actividad nitrogenásica, en un medio libre de nitrógeno (período de desarrollo 15 días).

Concentración de nutrimento (ppm)	Materia seca (g/m ²)	Tiempo de duplicación (1) (d)	Nitrógeno fijado (mg/m ²)	Actividad nitrogenásica ($\mu\text{mC}_2\text{H}_4/\text{m}^2/\text{h}$)	Tasa crecimiento relativo (g/g/d)
Fósforo					
0	345 ± 25	5.09 ± 0.19	240 ± 1	3.1 ± 1.4	0.14
0.2	924 ± 37	3.35 ± 0.05	864 ± 22	132.2 ± 7.7	0.21
0.8	1 324 ± 39	2.98 ± 0.03	1 553 ± 68	180.0 ± 33.1	0.23
3.2	1 344 ± 91	2.87 ± 0.05	2 008 ± 39	163.9 ± 31.5	0.24
12.8	1 491 ± 86	2.88 ± 0.05	1 966 ± 28	202.7 ± 44.9	0.24
Potasio					
0	150 ± 16	9.09 ± 0.99	160 ± 10	24.2 ± 4.3	0.08
1.0	546 ± 18	4.10 ± 0.06	1 240 ± 27	295.3 ± 10.8	0.17
5.0	739 ± 64	3.64 ± 0.11	1 662 ± 233	587.9 ± 20.4	0.19
25.0	870 ± 96	3.43 ± 0.14	1 597 ± 138	596.9 ± 49.3	0.20
125.0	928 ± 45	3.35 ± 0.05	1 349 ± 68	473.5 ± 6.2	0.21
Calcio					
0	*	*	*	*	*
1.0	147 ± 37	9.75 ± 2.20	149 ± 31	23.6 ± 5.3	0.07
5.0	468 ± 36	4.39 ± 0.15	510 ± 20	103.8 ± 21.6	0.16
25.0	658 ± 33	3.80 ± 0.08	702 ± 61	154.6 ± 33.0	0.18
125.0	1 317 ± 61	2.99 ± 0.04	1 888 ± 108	158.0 ± 15.9	0.23
Magnesio					
0	*	*	*	*	*
0.25	*	*	*	*	*
1.00	252 ± 17	6.09 ± 0.25	357 ± 23	99.4 ± 11.1	0.11
4.00	1 018 ± 152	3.26 ± 0.18	1 163 ± 201	292.3 ± 19.3	0.21
16.00	1 367 ± 54	2.95 ± 0.03	1 962 ± 54	15.8 ± 31.5	0.23
Hierro					
0	669 ± 10	4.31 ± 0.10	876 ± 21	33.6 ± 2.4	0.16
0.25	1 330 ± 139	3.59 ± 0.15	1 893 ± 210	378.7 ± 92.5	0.19
0.50	957 ± 100	3.79 ± 0.13	1 524 ± 153	341.5 ± 47.4	0.18
1.00	545 ± 47	4.70 ± 0.18	789 ± 95	206.4 ± 13.4	0.15
1.50	155 ± 21	10.20 ± 1.23	176 ± 21	38.6 ± 5.1	0.07
2.00	61 ± 15	45.55 ± 25.74	65 ± 10	5.3 ± 1.4	0.01

Inóculo equivalente a 50 g/m² de materia fresca.

(1) Cálculos efectuados con base en materia seca.

(*) Sin evaluación por muerte de la planta.

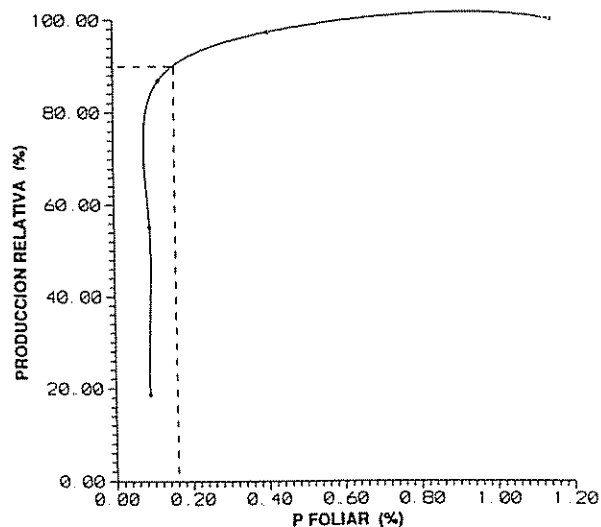


Fig. 1. Relación entre el contenido de fósforo en la planta de *Azolla filiculoides* y producción relativa.

quienes encontraron que el crecimiento y la fijación de N en *Azolla* se ven afectados si la solución nutritiva tiene menos de 0.93 ppm de P (0.03 mmol P/l).

Se apreció en los niveles óptimos de P en el medio que un inóculo equivalente a 50 g/m² de *Azolla* fresca produce, en un período de 15 d, alrededor de 1400 g de material fresco, con un tiempo de duplicación de 2.88 días. Por otra parte, con 3.2 ppm de P, se alcanzó el valor más alto de fijación de N (2008 mg N/m²).

De acuerdo con los resultados, la deficiencia de P inhibió el crecimiento y la fijación de nitrógeno. Se comprobó, además, la capacidad de la planta para acumular P en su tejido, pues alcanzó niveles cercanos a 1.2%, valores excepcionales en cualquier tejido vegetal. En efecto, Lumpkin y Plucknett (10) indican que concentraciones de P mayores de 0.23% y hasta 1.59% en la planta, se consideran como un consumo excesivo o de lujo, lo que demuestra que *Azolla* es capaz de almacenar seis veces los requerimientos de este nutriente, útil en períodos de déficit.

Potasio

En relación con el Cuadro 1 el desarrollo de *Azolla*, se vio más afectado en los medios con una concentración de 0 ppm y 1 ppm de K, y alcanzó con esta última una producción equivalente al 80% de la producción máxima. En estas concentraciones no se presentaron síntomas morfológicos visuales de deficiencia, situación

muy similar a lo indicado por Watanabe *et al.* (18), a quienes les fue difícil confirmar deficiencias con este nutriente, ya que las plantas no desarrollaron cambios de coloración.

El mejor desarrollo de la planta se manifestó en las concentraciones de 5 ppm a 125 ppm de K en el medio, y el nivel crítico foliar de deficiencia correspondió a 1.3% (Fig. 2). Al respecto, Quintero (13) menciona una concentración óptima en el tejido foliar de 1% a 2% y Yatazaw *et al.* (21) obtuvieron un nivel crítico de 15 ppm en el medio nutritivo.

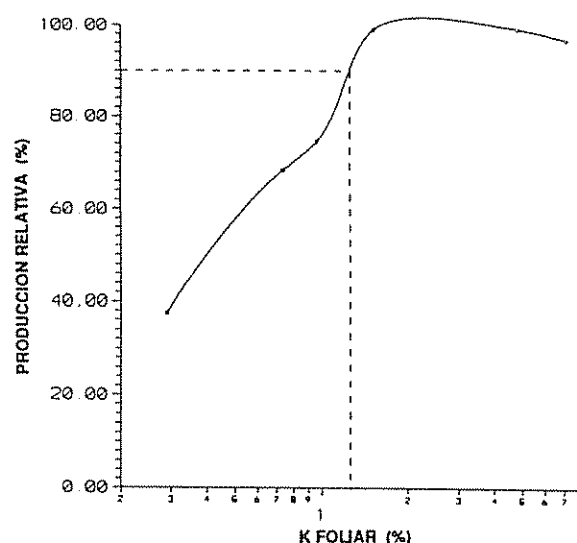


Fig. 2. Relación entre el contenido de potasio en la planta de *Azolla filiculoides* y la producción relativa.

Con una concentración de 5 ppm de K en el medio, se alcanzó el valor más alto de contenido de N en la planta. Por otra parte, se aprecia que en niveles de 5 ppm, 25 ppm y 125 ppm de K en el medio, inóculos de 50 g/m² de *Azolla* producen alrededor de 900 g de material fresco, con un tiempo de duplicación de 3.35 días.

Según los resultados obtenidos, la deficiencia de K no presentó un efecto tan pronunciado en la inhibición del crecimiento y la fijación de nitrógeno. Además, la enzima nitrogenasa no se vio afectada; por eso se mantuvo activa aún en concentraciones deficitarias, lo que concuerda con los resultados logrados por Watanabe *et al.* (18).

Calcio

En la Fig. 3 se presenta la relación entre la producción de materia seca, como porcentaje de la producción máxima observada y el contenido de Ca en la planta, después de 15 d de desarrollo en concentraciones de 0 ppm a 125 ppm de calcio.

La deficiencia de Ca limitó considerablemente el desarrollo de *Azolla*, y se manifestó la muerte de la planta antes de los 15 d en el tratamiento sin calcio. En el nivel de 1 ppm, la planta mostró una sintomatología clara de deficiencia, que se declaró como necrosis y coloración pardo rojiza de las frondas.

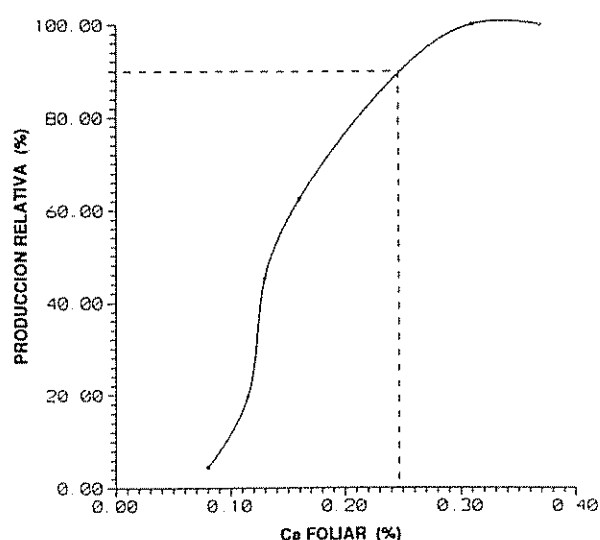


Fig. 3. Relación entre el contenido de calcio en la planta de *A. filiculoides* y producción relativa.

La producción de materia seca se incrementó directamente, hasta una concentración de 125 ppm de Ca en el medio y de 0.37% en el tejido foliar. El 90% de la producción máxima se obtuvo con una concentración de 0.25% de Ca en el tejido.

En el Cuadro 1 se presenta el efecto de la concentración de Ca en el medio sobre la producción de materia seca, el tiempo de duplicación, el N fijado, la actividad nitrogenásica y la tasa de crecimiento relativo. Estos resultados corroboran lo señalado anteriormente y manifiestan una concentración de Ca mayor de 125 ppm, en el medio, como la óptima para el crecimiento de la planta y la fijación de nitrógeno. El tiempo de duplicación varió de 9.75 d a 2.99 d; este último valor

corresponde a lo informado por otros autores (12, 13, 15), como una tasa óptima de crecimiento. La tasa de crecimiento relativo se presentó en un rango de 0.07 g a 0.23 g por gramo de inóculo al día.

La fijación de N y la actividad de la enzima nitrogenasa, se vieron directamente favorecidas con el incremento de Ca en el medio, llegando a una acumulación máxima de 18.9 kg N/ha en un período de 15 d y 158.05 $\mu\text{M}\text{C}_2\text{H}_4/\text{m}^2/\text{h}$, respectivamente. Con ausencia de Ca, de acuerdo con observaciones microscópicas, el alga no estaba presente en la planta.

Magnesio

El crecimiento de *Azolla* en los medios con 0 ppm y 0.25 ppm de Mg fue deprimido totalmente; primero se observó una necrosis generalizada, luego la muerte y la destrucción de las plantas (Cuadro 1). Esto tuvo como consecuencia una actividad nitrogenásica prácticamente nula. El análisis de contenido de nitrógeno y el porcentaje de Mg de la planta no se pudieron realizar en estos tratamientos, por el escaso material recolectado.

El desarrollo de las plantas en niveles de 1 ppm y 4 ppm de Mg, en el medio, fue notable; sin embargo se observaron síntomas morfológicos de deficiencias de Mg, más acentuados en el tratamiento de 1 ppm, que comenzaron con un leve amarillamiento de las hojas, pasando luego a un color pardo grisáceo, seguido de la súbita muerte de frondas en algunas plantas.

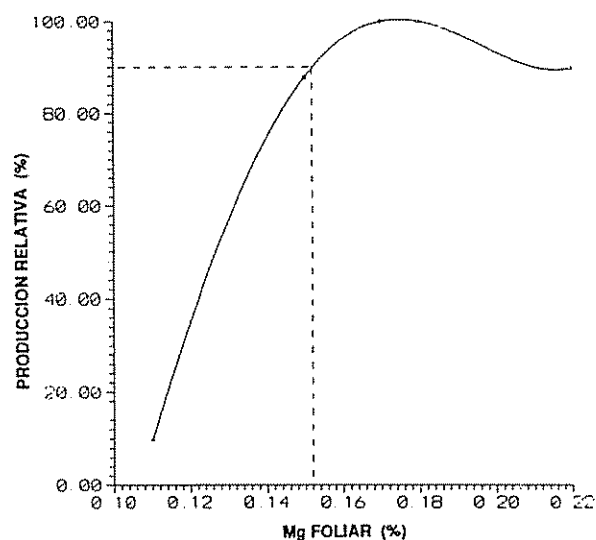


Fig. 4. Relación entre el contenido de magnesio en la planta de *A. filiculoides* y producción relativa.

El máximo crecimiento se manifestó en el nivel de 16 ppm de Mg en el medio, asociado a una concentración en la planta de 0.17% de magnesio. El nivel crítico en el tejido foliar correspondió a 0.15%, el valor más bajo señalado por Quintero (13), quien indica como nivel óptimo un 0.5% de Mg en la planta.

En relación con el efecto de la concentración de Mg en el medio sobre la producción de materia fresca, el tiempo de duplicación, el N fijado, la actividad de la enzima nitrogenasa y la tasa de crecimiento relativo, se puede observar que con una concentración de 16 ppm de Mg en el medio, un inóculo de 50 g/m² de *Azolla* fresca produce, al cabo de 15 d, 1367 g/m² de material fresco, con un tiempo de duplicación de 2.95 días. La tasa final de fijación de N fue de 19.6 kg/ha y la actividad final de la enzima nitrogenasa de 316 $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{m}^2/\text{h}$. Los resultados demuestran la gran influencia del Mg en el crecimiento de la planta y la fijación del N; eso indica que, en concentraciones deficitarias inferiores a 1 ppm de Mg en el medio nutritivo, la muerte de planta es inevitable. Esto concuerda, ampliamente, con los resultados de las investigaciones realizadas sobre contenido de nutrimentos en *A. pinnata* cultivada en una solución carente de Mg, en las que se obtuvo una producción de materia fresca de sólo un 6%, en relación con el control (18).

Hierro

El óptimo desarrollo de la planta y fijación de N se produjeron en concentraciones de 0.25 ppm a 0.55 ppm de Fe en el medio (Cuadro 1), asociadas en 250 ppm y 550 ppm de Fe en la planta (Fig. 5). Por lo tanto, estos últimos valores corresponden a los niveles críticos inferior y superior de concentración foliar, respectivamente.

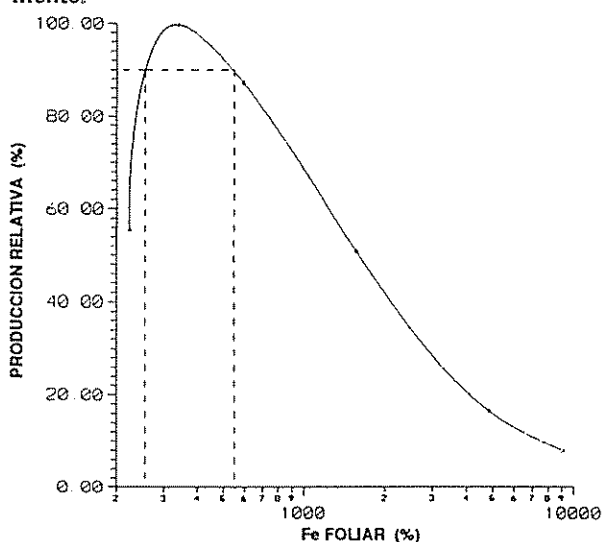


Fig. 5. Relación entre el contenido de hierro en la planta de *A. filiculoides* y producción relativa.

Por otro lado, el Fe al estar en concentraciones superiores a 0.55 ppm en el medio tuvo un claro efecto inhibitorio en el desarrollo de *Azolla*, y se llegó, con una concentración de 2 ppm, solamente al 8% de la producción máxima. Este efecto se vio asociado directamente a la concentración foliar de Fe, que se presentó en un rango de 224 ppm a 9095 ppm, una manifestación de la capacidad de acumulación de metales pesados de este helecho. Característica corroborada por Lumpkin y Plucknett (10), quienes señalan la particularidad de esta planta para acumular Fe, Mn, Cu y Zn.

Llama la atención que la mayoría de los autores (13, 20) utilizan medios nutritivos con una concentración entre 2 ppm y 5 ppm de Fe, en la forma de citrato de Fe o Fe-EDTA. En la presente experiencia se utilizó como fuente Fe-DTPA (Sequestrene 330 Fe), el que, posiblemente asociado a pH de carácter ácido en la solución, aporta la mayoría del Fe como ión ferroso y, por consiguiente, queda más disponible para su absorción.

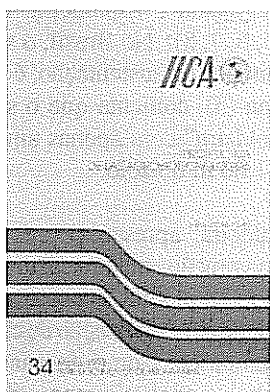
De acuerdo con los resultados alcanzados, se deduce que el rango óptimo en cuanto a la concentración de Fe en el medio y en la planta, es muy estrecho en comparación con otros nutrimentos, por lo cual, la disponibilidad de este elemento sería un factor clave en el manejo de *Azolla*.

LITERATURA CITADA

1. ALI, S; WATANABE, I. 1986. Response of *Azolla* to P, K, and Zn in different wetland rice soils in relation to chemistry of floodwater. *Soil Science and Plant Nutrition* 32(2):239-253.
2. ALLEN, O.N. 1957. Experiments in soil bacteriology. 3 ed. Minneapolis, Minnesota, Burgess Publishing Co. 117 p.
3. BECKING, J.H. 1979. Environmental requirements of *Azolla* for use in tropical rice production. In *Nitrogen and rice*. Los Baños, Philippines, IRRI. p. 345-373.
4. BUCKINGHAM, K.W. *et al.* 1978. Nutritive value of the nitrogen fixing aquatic fern *Azolla filiculoides*. *Agricultural and Food Chemistry* 26(5):1230-1234.
5. HARDY, R.W.F. *et al.* 1968. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation; laboratory and field evaluation. *Plant Physiology* 43(8):1185-1207.
6. HUNT, R. 1982. Concepts in plant growth analysis. In *Plant growth curves: The functional approach to plant growth analysis*. Scotland, Edward Arnold. p. 14-46.
7. KONDO, M; KOBAYASHI, M.; TAKAHASHI, E. 1989. Effect of phosphorus on *Azolla* and its utilization in rice culture in Niger. *Plant and Soil* 120:165-170.
8. LONGERI, L.; ETCHEVERS, J.; VENEGAS, J. 1979. Metodología de perfusión para estudios de nitrificación en suelo. *Ciencia e Investigación Agraria (Chile)* 6(4):295-299.

9. LUMPKIN, T.A.; PLUCKNETT, D.L. 1980. *Azolla*: Botany, physiology, and use as a green manure. *Economic Botany* 34(2):111-153.
10. LUMPKIN, T.A.; PLUCKNETT, D.L. 1982. *Azolla* as a green manure: Use and management in crop production. Boulder, Colorado, Westview Press. 230 p.
11. MIAN, M.H.; AZMAL, K.M. 1989. The response of *Azolla pinnata* R. Brown to the split application of phosphorus and the transfer of assimilated phosphorus to flooded rice plants. *Plant and Soil* 119:211-216.
12. PETERS, G.A. et al. 1980. *Azolla-Anabaena* association: Morphological and physiological studies. In *Nitrogen fixation*. Newton and Orme-Johnson (Eds.). Univ. Park Press, Baltimore. v. 2, p. 293.
13. QUINTERO, R. 1988. Evaluación y uso del biofertilizante *Azolla* en arroz (*Oryza sativa*) bajo condiciones de invernadero. Tesis M.Sc. Chapingo, Méx., Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Centro de Edafología. 215 p.
14. SING, A.L.; SINGH, P.K. 1989. A comparison of the use of *Azolla* and blue-green algal bio-fertilizers with green manuring, organic manuring and urea in transplanted and direct-seeded rice. *Experimental Agriculture* 25:485-491.
15. SUBUDHI, P.R.; SINGH, P.K. 1979. Effect of macronutrient and pH on the growth, nitrogen fixation and soluble sugar content of water fern *Azolla pinnata*. *Biologia Plantarum* 21(1):66-70.
16. TALLEY, S.N.; RAINS, D.W. 1980. *Azolla filiculoides* Lam as a fallow-season green manure for rice in a temperate climate. *Agronomy Journal* 72:11-18.
17. VIDAL, I.; LONGERI, L. 1990. Prospección de la asociación simbiótica *Azolla filiculoides* - *Anabaena azollae* en arrozales en Chile. *Ciencia e Investigación Agraria* 17(1-2):27-32.
18. WATANABE, I. et al. 1977. Utilization of the *Azolla-Anabaena* complex as a nitrogen fertilizers for rice. Manila, Philippines, IRRI. Research Paper Series no. 11. 14 p.
19. WATANABE, I. et al. 1981. The *Azolla-Anabaena* complex and its use in rice culture. Manila, Philippines, IRRI. Research Paper Series no. 69. 11 p.
20. WATANABE, I. 1982. *Azolla-Anabaena* symbiosis its physiology and use in tropical agriculture. In *Microbiology of tropical soils and plant productivity*. Y.R. Dommerges, H.G. Diem (Eds.). Martinus Nijhoff, The Netherlands. p. 169-185.
21. YATAZAWA, M. et al. 1980. Nitrogen fixation in *Azolla Anabaena* symbiosis as affected by mineral nutrients status. *Soil Science and Plant Nutrition* 26(3):415-426.

LIBRO RECOMENDADO



US\$5.00

Prospectiva de las Agrobiotecnologías. No. 34. Rodolfo Quintero. Programa II. 164 p. Serie Documentos de Programas (ISSN 1011-7741).

Consciente de la importancia de la biotecnología, el IICA ha desarrollado una serie de actividades de apoyo a los países miembros, tendientes a la formulación de políticas apropiadas para la difusión y la generación de agrobiotecnologías. En este contexto se ubica esta publicación, producto de una consultoría realizada por el Dr. Rodolfo Quintero, con el apoyo de ACDI.

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.

Estudo Comparativo entre Quatro Métodos de Sustentação do Maracujazeiro Amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.)¹

J.L.C. Faria, A.E.C. Rodríguez, G.R. Sander**
G.A.B. Marodin***

ABSTRACT

Work was carried out at the Osório Experimental Station, in the State of Rio Grande do Sul, Brazil (29°54' south latitude, 50°19' west longitude). Growth and production of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) were studied under four types of support: espalier with one wire; espalier with two wires; "normal T system"; and "Inclined T system". No significant differences were found for any of the variables studied. However, the data suggest that the "normal T system" is the best system for passion fruit.

Key words: Trellising system, training, trellising cost.

RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido na Estação Experimental de Osório, localizada no Distrito de Maquiné, Rio Grande do Sul, Brasil, latitude 29°54' Sul e longitude 50°19' Oeste. Teve por finalidade estudar o comportamento do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) sob quatro tipos de sustentação, que foram: "espaldeira com 1 fio"; "espaldeira com 2 fios"; sistema em "T normal" e sistema em "T inclinado". Foram analisados os dados referentes ao primeiro ano de produção. As análises estatísticas não mostraram diferenças significativas para nenhuma das variáveis estudadas. Apesar disso, os dados mostraram evidências de que o sistema "T normal" seria o mais vantajoso para a cultura.

Palavras chaves: Sistema de sustentação, condução, custos.

INTRODUÇÃO

A cultura do maracujazeiro tem-se desenvolvido bastante nos últimos anos, exigindo cada vez mais conhecimentos à respeito. Muito há ainda a ser pesquisado e um dos pontos pouco estudados é forma de sustentação. Alguns autores fazem comentários ou indicações sobre as diversas maneiras, mas não encontrou-se nenhum trabalho que abordasse o assunto dentro de uma metodologia científica.

O maracujazeiro, como planta trepadeira, necessita de sustentação para o seu perfeito desenvolvimento. Em função desse aspecto, o custo de implantação eleva-se muito, de forma que, conforme Matsunaga *et al.* (7), 70% do custo da cultura refere-se a gastos com material,

sendo que desse montante, 78% representam gastos com a preparação do sistema de sustentação. Esses custos, a princípio, parecem bastante elevados, mas é necessário levar-se em consideração que eles devem ser computados em quatro anos de produção.

Conforme a literatura sobre a cultura, tres sistemas podem ser empregados: "latada", "espaldeira" e sistema em "T" (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). No Brasil, o sistema de "espaldeira" com dois fios de sustentação, é o mais empregado (6). Já Luna (5), comenta que o sistema mais usado é o de "espaldeira" com apenas um fio de sustentação à altura de 1.80 m do solo.

O sistema de "espaldeira" apresenta como vantagens, a facilidade de construção, menor custo de implantação, maior aeração, das plantas, comparada com o "latada" e maior facilidade para realização de capinas, tratos culturais e fitossanitários. Como desvantagem, deve ser considerado o baixo aproveitamento da área, quando em monocultura. Neste sentido, Aubert (1), relata que o sistema de condução em "T", sob altas densidades, apresenta um potencial de produção que supera em 70% o do sistema em "espaldeira".

Deve-se isso, ao fato de que no sistema em "T", há um melhor aproveitamento de área, não apresentando

1 Aceito para publicação em 24 de fevereiro de 1992.

* Eng. Agr. M.Sc. Director da Estação Experimental de Osório, IPAGRO, Secretaria da Agricultura e Abastecimento, Vila Maquiné, Osório, Rio Grande do Sul, Bra., Cep. 95530.

** Eng. Agr. Estação Experimental de Osório, Vila Maquiné, Osório, Rio Grande do Sul, Bra., Cep. 95530.

*** Professor de Fruticultura da Faculdade de Agronomia, UFRGS, C. Postal 776, Cep. 91500, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Bra.

problemas de aeração, vantagem esta, que justifica maiores estudos para obtenção de informações técnicas nas condições brasileiras, já que, no Havai, tradicional produtor, este sistema é o mais utilizado (1, 6). Segundo Lippmann (4), as investigações não tem sido bem conduzidas para que se possa precisar até que ponto esta vantagem é reduzida pelas maiores dificuldades de implantação e custos.

Este trabalho foi realizado para verificar as diferenças em produtividade entre quatro sistemas de sustentação do maracujazeiro amarelo, quais sejam: "espaldeira", 1 fio (E1); "espaldeira", 2 fios (E2); sistema em "T" normal (Tn) e sistema em "T" inclinado (Ti).

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na Estação Experimental de Osório, localizada em Maquine, município de Osório, região fisiográfica Litoral Norte do Estado do Rio Grande do Sul, Bra., 29°54' de Latitude Sul e 50°19' de longitude Oeste. O clima da região está enquadrado na classificação de Köppen, como subtropical do tipo Cfa. A região apresenta inverno ameno, com temperatura média das mínimas de 10.2 °C, nos meses de inverno. A temperatura média do mes mais quente é de 24.3 °C. As chuvas são bem distribuídas durante o ano, com precipitação anual, atingido 1658 mm e umidade relativa anual média do ar de 80%.

O solo onde foi instalado o experimento, está classificado como Brunizem Avermelhado de textura franco-argilosa.

Aplicou-se em toda a área uma dosagem de calcário de 5.5 t/ha. No preparo da cova foi colocado 300 g/planta de superfosfato simples e 100 g/planta de cloreto de potássio. O plantio foi realizado em 03 de dezembro de 1987, com mudas obtidas a partir de sementes. As adubações durante o ano foram realizadas da seguinte maneira: sulfato de amônio (20% N), 200 g/planta nos meses de março, agosto e dezembro; superfosfato simple (18% P₂O₅), 500 g/planta no mes de março; cloreto de potássio (60% K₂O), 100 g/planta nos meses de março, agosto e dezembro.

O espaçamento utilizado foi de 3 metros entre fileiras e 3 metros entre plantas.

Foram testados quatro tratamentos, todos eles conduzidos a 1.80 m de altura a partir do solo, susten-

tados por postes de eucalipto colocados a uma distância de 5 m entre si, e fios de arame liso galvanizado. No primeiro tratamento, "espaldeira com 1 fio" (E1), o arame foi estendido na altura de 1.80 m, e as plantas conduzidas em haste única até a altura do arame, sendo então, direcionadas horizontalmente para apenas um lado, ate atingir 0.5 m da outra planta. No segundo, "espaldeira com 2 fios" (E2), foi estendido 2 fios de arame, sendo um, a 1.20 m do solo e o outro a 1.80 metros.

A planta foi conduzida em haste única até o segundo fio (1.80 m) sendo então direcionada horizontalmente para um único lado até atingir a distância de 0.5 m da próxima planta, quando então, foi conduzida para o primeiro fio (1.20 m) e direcionada em sentido contrário.

No terceiro, sistema em "T" normal (Tn), foi colocado uma travessa de 1 m na parte superior do poste, sendo estendido 3 fios de arame, um central e um em cada extremidade da travessa. A planta foi conduzida em haste única até a altura de 1.80 m, sendo então selecionados 3 hastes, cada uma desenvolvendo-se sobre um fio e direcionadas para apenas um lado, até atingir 0.5 m da outra planta.

O quarto, sistema "T" inclinado (Ti), é semelhante ao anterior, sendo que, a travessa é colocada numa posição que forme um ângulo de 45 cm relação ao solo, ficando a parte mais alta voltada para o Norte.

A Fig. 1, mostra esquematicamente os quatro tratamentos utilizados. Na linha de plantio, o crescimento longitudinal de todos os tratamentos foi controlado, de modo que, ficasse dentro dos limites que iam: do ponto de plantio até 2.5 m em uma única direção. Todo o ramo que cresceu fora desse limite, foi orientado para se desenvolver dentro de área determinada. Tal procedimento teve a finalidade de evitar o entrelaçamento entre as plantas, o que prejudicaria o levantamento dos dados.

Para a elaboração dos custos totais dos sistemas de sustentação foram computados gastos com: postes, travessas e mão-de-obra, levando em consideração os valores locais dos materias e serviços.

A colheita iniciou-se, um ano após, janeiro de 1989, estendendo-se até julho do mesmo ano, quando então as plantas paralizaram a produção. Os frutos foram recolhidos do chão em até 3 vezes por semana nos meses de maior produção (abril, maio).

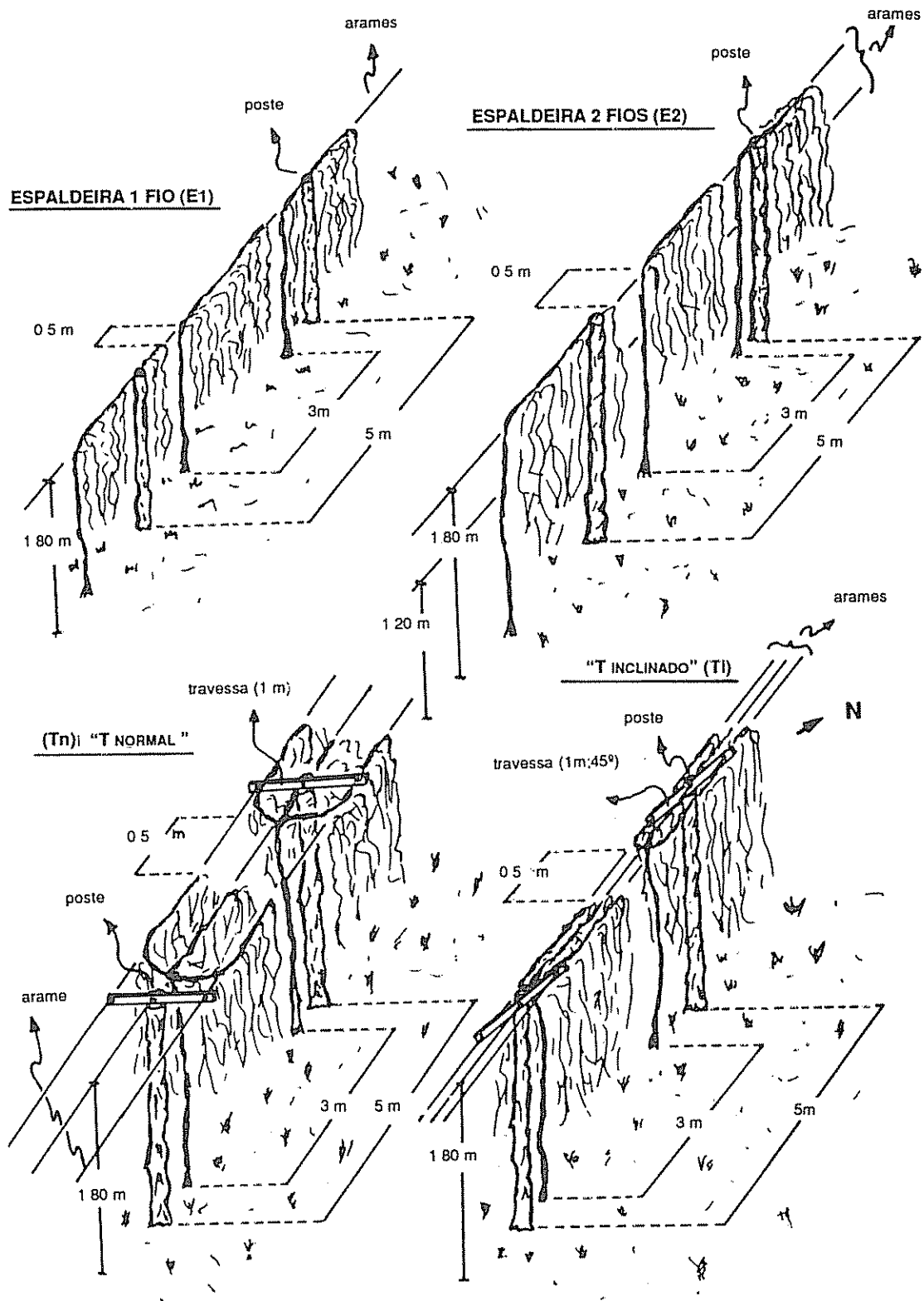


Fig. 1. Representação esquemática dos quatro tipos de sistemas de sustentação utilizadas.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com quatro tratamentos e cinco repetições, usando-se quatro plantas por parcela, sendo essas cercadas totalmente por plantas bordadura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Quadro 1 mostra os resultados do primeiro ano de produção do experimento. A análise estatística não mostrou diferenças significativas entre os quatro tratamentos, para nenhuma das variáveis estudadas.

O fato de estatisticamente não ter havido significância, é devido ao alto coeficiente de variação (C.V.). Estes valores altos de C.V. são comuns em trabalhos de Fruticultura, mas, no caso do maracujazeiro, onde as mudas são obtidas por sementes e as sementes oriundas de polinização cruzada, a variabilidade genética entre as plantas é também grande, colaborando consequentemente para a elevação do coeficiente.

Os resultados, embora não significativos estatisticamente, mostram uma tendência de maiores rendi-

mentos para os sistemas em "T", confirmando parcialmente o que comenta Aubert (1), que diz haver um potencial de produção que supera em 70% o sistema em espaldeira. Pelo Quadro 2, podemos observar nos rendimentos relativos, que o tratamento "Tn" atingiu produções 36% superiores ao sistema "E2". Com as produções dos anos subsequentes essas evidências poderão ser confirmadas, proporcionando maior segurança para afirmar sobre a superioridade do sistema "Tn".

O Quadro 2, mostra o custo de implantação dos sistemas utilizados. O sistema mais simples é "E1". No sistema "E2", os custos aumentam apenas no que se refere à duplicação com os gastos em arames e um pequeno aumento quanto a mão-de-obra. Já no sistema "T", triplica os gastos com arame, acrescenta-se os custos das travessas e aumenta a mão-de-obra em torno de 50%, sendo que no sistema inclinado a mão-de-obra apresenta um acréscimo de 60%, sempre em relação ao sistema "E1".

Na análise da conveniência ou não, de um ou outro método, deve ser levado em consideração a relação

Quadro 1. Valores médios de produção, número de frutos por planta e peso médio de frutos, obtidos no primeiro ano de produção do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg.) sob quatro tipos de sustentação (Trabalho conduzido em Maquiné, 1989).

Tratamentos	Rendimento (kg/pl)	N frutos por planta	Peso médio dos frutos	Rendimento (t/ha)
Tn	22.95 a	201.40 a	113.95 a	25.50
Ti	19.36 a	179.55 a	107.82 a	21.51
E2	16.83 a	153.15 a	109.89 a	18.70
E1	17.31 a	156.55 a	110.57 a	19.23
C.V	21.13%	21.16%	8.69%	21.17%

Quadro 2. Demonstrativo de custos de implantação dos sistemas de sustentação em pomar de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg.), relação entre custos e o rendimento relativo. Maquiné, 1990.

Sistemas	Custo total do sistema sustentação (Cr\$/ha)	Aumento do custo (%)			Rendimento relativo
E1	93.400.00	100.00	-	-	1.03
E2	106.400.00	113.92	100.00	-	1.00
Tn	152.400.00	163.17	143.23	100.00	1.36
Ti	153.400.00	164.24	144.17	100.00	1.15

OBS. "x", sistema usado como referência

* Os valores foram atualizados para jun/1990

** Como comparativo, usou-se o sistema de menor produção (E2)

custo/benefício. O acréscimo de produção do método mais produtivo (Tn), em relação ao método menos oneroso (E1), é da ordem de 6.27 t/ha (Tabela 1), portanto este valor, transformado em moeda corrente, deve ser maior do que a diferença dos custos de implantação. No caso do experimento, considerando os valores locais dos materiais e um preço médio obtido na Central de Abastecimento do Estado do Rio Grande do Sul, na base de Cr\$10.00 por quilo, teríamos um gasto a mais com o sistema de implantação, de Cr\$59 000 e um acréscimo de rendimento equivalente a Cr\$62 700, o que seria o suficiente para pagar a diferença do custo do sistema, sobrando uma pequena margem de lucro.

Não levamos em consideração o custo financeiro do dinheiro. Considerando que os resultados referem-se ao primeiro ano de produção, que as plantas do tratamento "Tn" apresentaram aspecto fitossanitário melhor que os outros tratamentos, devido provavelmente a melhor distribuição dos ramos nesse sistema e que, os custos devem ser diluídos entre quatro anos de produção, podemos considerar o sistema "Tn" como adequado e vantajoso à cultura. Outro aspecto que chama a atenção, é que o sistema "Tn", pela melhor distribuição dos ramos, apresenta as flores colocadas mais superficialmente que no sistema de "espaldeira", isto parece favorecer a polinização pelas mamangavas, diminuindo a queda de flores, conseqüentemente aumentando a frutificação.

Com relação aos sistemas de "espaldeira", o uso de 2 fios de arame não representou aumento no rendimento na primeira produção. Embora o sistema E2, forneça melhor fixação dos ramos, ele representa 13.92% a mais de gastos na implantação. Para melhor avaliar, é preciso dados das próximas produções, onde poderemos verificar se a melhor fixação responde com maior rendimento e se responder, quando a mais será auferido.

Com relação aos sistemas "T", a inclinação na travessa superior não apresentou nenhuma vantagem, inclusive esse tratamento produziu aproximadamente 20% a menos que o "T" normal e consumiu um pouco mais de recursos financeiros (Quadro 2).

Pelo que foi apresentado, o trabalho mostrou que pode haver uma vantagem no uso do sistema "Tn" em relação aos outros sistemas testados. Essa vai depender

da região, em relação à construção do sistema de sustentação. A continuação dessa pesquisa, com o levantamento dos dados de colheita nos anos subsequentes, deverá mostrar com maior precisão as diferenças entre os quatro sistemas testados.

CONCLUSÕES

- As análises estatísticas não mostraram diferenças significativas para as variáveis estudadas.
- O sistema "Tn" pode ser mais vantajoso, em função das tendências apresentadas pelo resultados.
- No sistema de espaldeira, o uso de 2 fios de arame não apresentou vantagens em relação ao espaldeira com 1 fio.
- No sistema em "T", a inclinação em 45° da travessa superior, se mostrou prejudicial aos aspectos produtivos.
- Quanto aos custos de implantação, o sistema "Tn" foi 63.17% mais oneroso do que o sistema E1.

LITERATURA CITADA

1. AUBERT, B. 1974. La culture de la grenadille au Kenya. *Fruits* 29(4):323-328.
2. CARVALHO, A.M. 1965. Instruções práticas: Cultura do maracuja. *O Agrônomo* 17(9/10):12-20.
3. HAURY, A. 1979. Premières résultats d'un test de taille de grenadille dans le mungo au Cameroun. *Fruits* 34(4):289-293.
4. LIPPMANN, D. 1978. Cultivation of passion fruit growing in Kenya. Eschborn, Germany. 88 p.
5. LUNA, J.V.U. 1984. Instruções para a cultura do maracuja Salvador, Bra., Empresa de Pesquisa Agropecuária da Bahia S.A., EPABA. Circular Técnica n. 7. 25 p.
6. MANICA, I. 1981. Fruticultura tropical. I. Maracuja. São Paulo, Bra. Agrônoma Ceres. *Ceres* 26:151.
7. MATSUNAGA, M.; AMARO, A.A.; NIEVES, E.M. 1971. Aspectos econômicos da cultura do maracuja em São Paulo. *Agricultura em São Paulo (Bra)* 18(9/10):47-67.
8. RUGGIERO, C. 1987. Cultura do maracujazeiro. Ribeirão Preto, Bra., Legis Summa. 250 p.

Studies on the Ecology and Behaviour of *P. xylostella* L. Cannibalism Induced by Starvation¹

P. J. Salinas*

ABSTRACT

Experiments were designed in order to observe and record the behavior of the larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) under starvation by depriving them of food, after being previously well-fed. When the larvae of the diamondback moth are subjected to starvation, some physiological and behavioral changes occur. The changes in behavior may be drastic. The larvae become aggressive and irritable, disturbed by any nearby movement. The individual larva normally reacts to the disturbance by moving away and, if another touches it, both larvae crawl away in different directions. In some extreme cases of starvation, the larvae may acquire cannibalistic tendencies; if a weakened larva is found by a stronger one, the normal biting associated with their encounter encourages the stronger larvae to feed on the weak one. Despite the vigorous movement of the attacked larva, the aggressor continues to bite. The attacked larva does not cease to struggle in an unsuccessful effort to escape from the continuous biting of the aggressor larva, and every time the attacked larva struggled, the aggressor became more aggressive and made very rapid attacks in the form of a series of bites all over the abdomen, biting any part of the abdomen that it grasped. Next morning, there was nothing left of the attacked larva, not even the head capsule. This cannibalistic behavior has apparently not been reported before in the diamondback moth, and is very rare in Lepidoptera.

INTRODUCTION

The diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) is an important pest of cruciferous crops throughout the world, as shown by Salinas (1, 3, 4). Many papers have been published on the chemical and biological control of this pest, but very few on its ecology and behavior.

¹ Received for publication 16 July 1991.

I should like to thank Prof. T. R. E. Southwood for granting facilities at Imperial College Field Station, University of London; to Prof. M. J. Way for his supervision and criticism of the manuscript, and to all those who collaborated in the conclusion of the present work. The financial support of the *Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias*, the *Universidad de los Andes* and the CDCIT-ULA, is gratefully acknowledged.

* Universidad de Los Andes, Apartado 241, Mérida, Ven.

RESUMEN

Se diseñaron experimentos para observar y registrar el comportamiento de las larvas de la polilla del repollo, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) bajo inanición, después de haber sido bien alimentadas. Cuando las larvas de la polilla del repollo son sometidas a inanición, les ocurren algunos cambios fisiológicos y de comportamiento. Los cambios de comportamiento pueden ser drásticos. Las larvas se vuelven agresivas e irritables, perturbándose por cualquier movimiento cercano. La larva individual reacciona normalmente a la perturbación moviéndose y alejándose, y si otra larva la toca, ambas se alejan en diferentes direcciones. En algunos casos extremos de inanición, las larvas adquirirían tendencias canibalísticas; y si una larva debilitada se encuentra con otra más fuerte, el comportamiento cambia y la más fuerte se alimenta de la débil. En el experimento, a pesar de los movimientos fuertes de la larva "atacada", la "agresora" continuó mordiéndola. La "atacada" no dejó de forcejear en un esfuerzo inútil por escapar de las mordeduras continuas de la "agresora", y cada vez que la otra forcejeaba la "agresora" se mostraba más agresiva y atacaba muy rápido con una serie de mordeduras en cualquier parte del abdomen. Al día siguiente no quedaron restos de la larva "atacada", ni siquiera la cápsula craneal.

MATERIALS AND METHODS

Experiments were designed in order to observe and record the behavior of the larvae under starvation by depriving them of food after they had previously been well fed.

The experiments were carried out in controlled environment rooms at 20 ± 1 °C, 16 h of light per day and 44% - 52% relative humidity. The cages, the leaf discs and the set-up of the experiments were similar to those previously described (2, 5).

RESULTS

When the larvae of the diamondback moth are subjected to starvation, some physiological and behavioral changes occur. The changes in physiology will not be discussed. Behavioral changes may be drastic.

The larvae become aggressive and irritable, being disturbed by the slightest nearby movement. The individual larva normally reacts to the disturbance by moving away and, if another touches it, both larvae crawl away in different directions. When the contact is strong, they perform rapid twitching movements of the thorax and/or abdomen. In some cases, the twitching movements are made so rapidly that the larva is displaced from its initial location. In extreme cases of starvation, the larvae may acquire cannibalistic tendencies; if a weakened larva is found by a stronger one, the normal biting associated with their encounter changes into the stronger larvae feeding on the weak one. Such cannibalistic behavior has apparently not been reported before, and description of it follows:

A third-instar larva from a group of starved larvae was moulting into a fourth-instar on the cage wall. Probably due to starvation conditions, the cuticle of the last abdominal segment did not separate from the newly moulted larva, sticking it to the exuvia which in turn adhered to the cage wall. As the larva struggled to get free, another fourth-instar larva arrived and started to bite the penultimate abdominal segment of the stuck larva. Despite the very strong movement of the attacked larva, the aggressor continued to bite until it made a hole on the dorsal part of the abdominal segment, through which the haemolymph began to flow out.

The attacked larva did not cease to struggle in its unsuccessful effort to escape the continuous biting of the aggressor, which was feeding on the released fluid (Fig. 1). After the haemolymph, a semi-liquid green material, probably part of the gut contents, emerged. The process had now taken 30 minutes. The aggressor larva stopped for one minute, and then moved to the frontal part of the attacked larva, where it started to bite the thorax and abdomen. At this stage, the following change of behavior was observed in the aggressor: every time the attacked larva struggled, the aggressor became more aggressive, making very rapid attacks in the form of a series of bites all over the abdomen; by this time, 45 minutes had passed.

Once the aggressor had eaten most of the flowing green material from the body of the attacked larva, it started to eat the right pleura of the fourth-abdominal segment. The attacked larva ceased struggling, only moving the anterior part of the body. The aggressor

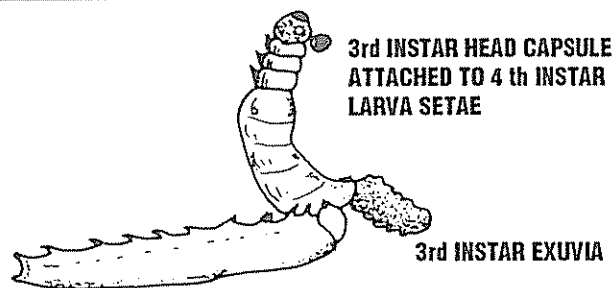


Fig. 1. Cannibalism induced by starvation in *Plutella xylostella*

then feed on the thorax. One hour after the attack started, the aggressor was eating the thorax and trying unsuccessfully to bite the head capsule of the prey. Then the aggressor moved again to the abdomen and made a hole on the ventral side of the last abdominal segment. It continued eating for 30 minutes more, then stopped. The attacked larva, now almost empty of body contents, was motionless. Five minutes later the aggressor started to eat again at the last abdominal segment of the attacked larva, and in about five minutes it ate all the cuticle of that segment, including the prolegs. Then, 105 minutes from the beginning of the attack, the aggressor started to eat and rest, during alternating periods of 3 to 5 minutes. Next morning (it was not observed during the night) the attacked larva was totally eaten, including the head capsule.

LITERATURE CITED

1. SALINAS, P.J. 1977. Studies on the ecology of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). I. Distribution and description of the different stages. *Acta Biológica Venezuelica* 9:271-282.
2. SALINAS, P. J. 1984. Studies on the behavior of the larvae of *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae), a world pest of cruciferous crops: Normal and 'spacing' behavior. *Turrialba* 34:77-84.
3. SALINAS, P.J. 1984a. Ecología de la polilla del repollo, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) II. Ciclo de vida. *Turrialba* 36:130-134.
4. SALINAS, P.J. 1986b. Studies on diamondback moth in Venezuela with reference to other Latin American countries. In *International Workshop Diamondback Moth Management. Proceedings. Taiwan.* p. 17-24.
5. SALINAS, P.J. 1990. Studies on the ecology and behavior of the larvae of *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae). III. Effects of size and shape of the host plant leaves. *Turrialba* 40:40-43.

Asimilación de Carbono y Nitrógeno en Hojas de Café¹

J.I. Fahl*, M.L.C. Carelli*, A.C. Magalhães**

ABSTRACT

A greenhouse experiment was carried out to study the effect of leaf age on net photosynthesis rate, *in vivo* nitrate reductase activity, and chlorophyll a, b, protochlorophyll and total nitrogen content of coffee plants (*Coffea arabica* L.). Young plants were cultivated in pots containing a mixture of soil and organic matter. Measurements were made in the first four pairs of leaves of the orthotropic stem, from the apex. The leaves in expansion, around 30 d old, were considered as pair +1; the leaves recently expanded were pair +2, around 45 d old; pairs +3 and +4 were those the following. Photosynthetic rate and nitrate reductase activity were low in pair +1, highest in pair +2, and decreased with age (pairs +3 and +4). Total nitrogen content increased as the leaf expanded, remaining constant in mature leaves. Chlorophyll content showed a similar nitrogen behavior, and the chlorophyll ratio a:b was maintained constant among the studied pairs. Photosynthetic capacity and nitrate reductase activity showed the same pattern of change during coffee leaf ontogeny, suggesting a close relationship between these two processes.

RESUMEN

Se estudió el efecto de la edad de la hoja sobre la tasa fotosintética neta, la actividad *in vivo* de la enzima reductasa de nitrato y el contenido de clorofila a y b, protoclorofila y N total en café (*Coffea arabica* L.). Se cultivaron plantas jóvenes en bolsas de polipropileno, en una mezcla de tierra y materia orgánica, en condiciones de invernadero. Las determinaciones se efectuaron en los cuatro primeros pares de hojas de la rama ortotrópica, contadas a partir del ápice. La tasa de fotosíntesis neta y la actividad de la reductasa de nitrato fueron bajas en las hojas al inicio de la expansión (par +1), que alcanzaron valores máximos en las hojas recientemente expandidas (par +2) y que decayeron posteriormente con la edad (pares +3 y +4). El contenido de N total también aumentó con la expansión de la hoja y permaneció constante en las hojas fisiológicamente más maduras. El comportamiento del contenido de clorofila y de N total fue similar y la relación clorofila a y b se mantuvo constante en los cuatro pares de hojas estudiados. El paralelismo determinado entre la tasa fotosintética y la actividad de la reductasa de nitrato indica la existencia de una interrelación entre los dos procesos y su importancia durante la ontogenia de hojas de plantas de café.

INTRODUCCION

La fotosíntesis foliar puede ser influenciada por muchos factores, algunos propios de la planta tales como edad y la posición de la hoja, el efecto de "sink", el sombraje mutuo, y otros de carácter ambiental como la luz, temperatura, nutrición y disponibilidad de agua (6).

En el nivel celular el contenido de N foliar y la capacidad fotosintética son altamente correlacionados

(11). Esto parece ser consecuencia de las limitaciones de la capacidad fotosintética impuesta por la cantidad de enzimas de carboxilación y el paralelismo entre los niveles de N foliar y de enzimas fotosintéticas (11). Por otro lado, la reductasa de nitrato (RN), clave en la incorporación de N-mineral en compuestos orgánicos (2), depende de los hidratos de carbono producidos en los procesos fotosintéticos.

La edad de las hojas es un factor importante en la capacidad fotosintética. La producción fotosintética aumenta después del inicio de la morfogénesis de la hoja y alcanza el punto máximo cuando la hoja completa su crecimiento y, posteriormente, empieza a declinar. Este comportamiento ha sido observado en numerosas especies, tales como *Pinus* spp. (13), *Perilla frutescens* (15), cacao (1), algodón (6), soja (30) y papaya (20).

La actividad de la reductasa de nitrato (aRN) muestra un modelo similar descrito para la fotosíntesis durante la ontogenia de la hoja (3, 16, 25).

¹ Recibido para publicación el 6 de marzo de 1992.

Trabajo financiado parcialmente con fondos del Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) Se agradece al Dr. Roberto Antonio Arévalo por su colaboración en la traducción del trabajo.

* Instituto Agronómico de Campinas, Caixa Postal 28, CEP 13001-Campinas, SP, Bra.

** Instituto de Biología, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Bra.

El descenso en la tasa de fotosíntesis neta (Fn), durante el envejecimiento de la hoja, pudo relacionarse con el contenido de clorofila, N total, proteína y actividad de la enzima ribulosa-1.5 difosfato carboxilasa-oxigenasa (22).

La declinación de la aRN con el aumento de la edad en los tejidos guarda correspondencia con la capacidad de síntesis de proteínas (2) y la actividad fotosintética (19).

En plantas de café, como en otras especies, se ha observado previamente que la Fn (9, 28) y la aRN (4, 21) disminuyen con la edad de la hoja. Sin embargo no fueron investigadas las relaciones entre Fn, aRN y el contenido de clorofila y N-total durante el desarrollo de la hoja de café.

El presente trabajo tiene como objetivo verificar los efectos de la edad de la hoja sobre la tasa fotosintética, la actividad de la reductasa de nitrato y el contenido de clorofila y N en plantas jóvenes de café.

MATERIALES Y METODOS

Se usaron semillas de café (*C. arabica* L.) cv. Catuai Vermelho H-2077-2-5-81 de la *Seção de Genética del Instituto Agrônomo de Campinas*- SP- Brasil, germinadas en arena gruesa previamente lavada. Cuando las plantas alcanzaron el estadio vegetativo correspondiente a la apertura de las hojas cotiledonares, fueron trasplantadas en bolsas de polipropileno, que contenían alrededor de dos litros de una mezcla de suelo y material orgánico. Las plántulas se mantuvieron en invernáculo con una disminución del 50% de la luz solar hasta la edad de diez meses. Las determinaciones se efectuaron en los cuatro primeros pares de hojas de la rama ortotrópica, a partir del ápice. Se consideró como hoja +1 aquella en crecimiento, con edad alrededor de 30 días después de haber emergido, una hoja +2 aquella que llegó al crecimiento definitivo, con una edad de 45 días; como hojas +3 y +4, los pares subsecuentes.

La tasa de fotosíntesis neta (Fn) fue determinada por la metodología descrita por Fahl *et al.* (10), mientras se mantuvo la cámara de asimilación del carbono (CAC) en las siguientes condiciones: necesidad de flujo de fotones (DFF) $222 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura $27^\circ\text{C} \pm 0.5$ y velocidad del aire 1.20 cm s^{-1} .

La actividad *in vivo* de la enzima reductasa de nitrato (aRN) fue determinada siguiendo la metodolo-

gía especificada por Carelli *et al.* (5) y los tenores de N-total por el método de microkjeldahl.

Las extracciones de protoclorofila (protoCfla), clorofila a (Cfla a) y clorofila b (Cfla b) se realizaron por la metodología delineada por Koski *et al.* (19) con modificaciones, procurando optimar la técnica para café. Transcurridas 9 h se retiró una hoja en forma separada de cada par, de cuatro plantas diferentes, con el fin de formar cuatro muestras. Seguidamente se seccionaron las hojas y 1.0 g de cada muestra se sumergió en 15 ml de acetona; después se transfirió a un mortero de porcelana y se maceró con arena.

El extracto de acetona se filtró al vacío y se lavó dos veces con 70 ml de acetona; se agregaron 20 ml de éter etílico y la mezcla se colocó en un embudo de reparación con 100 ml de agua destilada. El proceso se repitió dos veces para remover la acetona y la mezcla éter-acetona-pigmentos. La solución de éter-pigmentos se colocó en una probeta y el volumen se completó a 20 ml con éter etílico. Se tomó una alícuota de 1.0 ml; se colocó en un balón volumétrico de 10 ml y se completó el volumen con el mismo solvente. Las lecturas fueron hechas en un espectrofotómetro en 620 nm y 625 nm para la protoCfla; en 660 nm y 665 nm para la Cfla a; en 640 nm y 645 nm para la Cfla b; los valores de la absorbancia se calcularon a 624 nm, 662 nm y 642 nm, por medio de la interpolación armónica (23). Para estimar los valores de protoCfla, Cfla a y Cfla b, fue utilizado el sistema de ecuaciones propuesto por Smith y Benitez (26).

El área foliar (AF) de cada hoja se obtuvo calculando el producto del largo por ancho máximo por factor 0.62. Ese factor fue previamente calculado a través de una submuestra compuesta de hojas por cada par estudiado, con el auxilio de un integrador de área foliar LICOR modelo LI 3000.

La aRN, tenores de Cfla y de N-total se analizaron en los mismos tejidos vegetativos usados para determinar la Fn, con cuatro repeticiones por cada par de hojas, y cada repetición fue en una planta.

RESULTADOS

Las variaciones en la Fn y en la AF de los pares de hojas, colocados a lo largo de la rama ortotrópica de las plantas de café, se representan en las Figs. 1 y 3. Se comprueba que la Fn es baja en las hojas en el inicio de

su crecimiento (par +1) y alcanza valores máximos en las hojas recién expandidas (par +2) y declina posteriormente con la edad (pares +3 y +4). Ese comportamiento fue observado en plantas de café (9, 28).

En la Fig. 2 se determina que los contenidos de Cfla total, Cfla a y Cfla b acompañan el aumento de la Fn que ocurre con la expansión de la hoja (Fig. 1). En las hojas fisiológicamente más maduras (+3 y +4), la concentración de esos pigmentos aumentó levemente, mientras que la Pn empezó a disminuir (Fig. 1). Los contenidos de Cfla a y Cfla b acompañaron los aumentos verificados en las concentraciones de Cfla total y la relación Cfla a: Cfla b se mantuvo constante en los pares de hojas estudiados (Fig. 2). Esos resultados concuerdan con los datos obtenidos por Baker y Hardwich (1) en hojas de plantas de cacao.

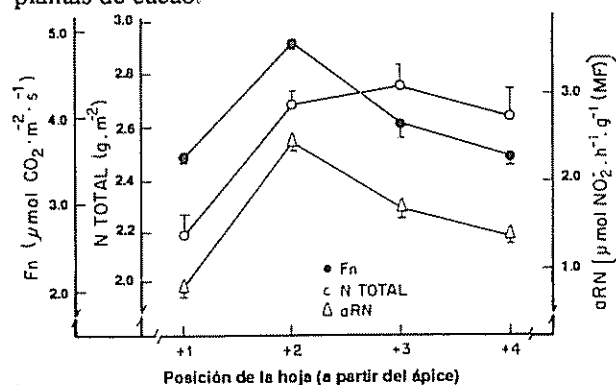


Fig. 1. Tasa fotosintética neta (Fn), actividad *in vivo* de la enzima reductasa de nitrato (aRN) y tenor de nitrógeno total (N-total) en varios pares de hojas de la rama ortotrópica de planta de café (edad 10 meses). Valores medios \pm desviaciones promedio de cuatro repeticiones.

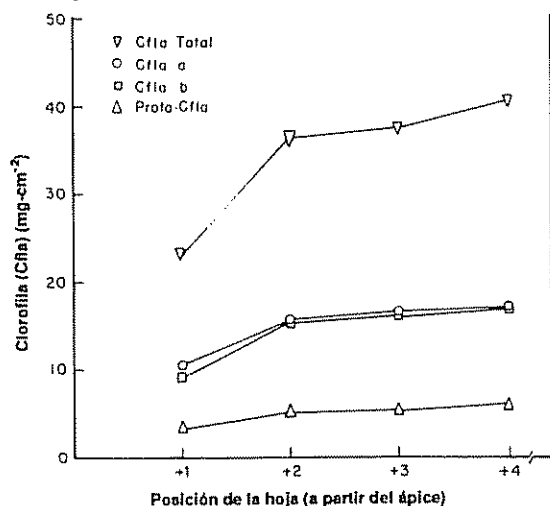


Fig. 2. Contenidos de clorofila total (Cfla total), clorofila b (Cfla b) y protoclorofila (protoCfla) en varios pares de hojas de ramas ortotrópicas de plantas de café (edad 10 meses). Valores medios de cuatro repeticiones. Variaciones de las desviaciones promedio 0.05 mg cm⁻² a 1.67 mg cm⁻².

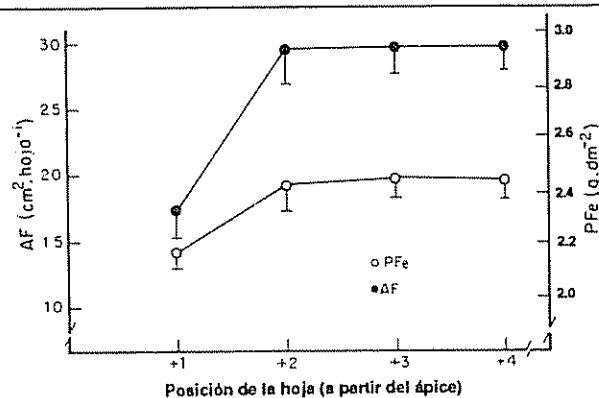


Fig. 3. Area foliar (AF) y peso foliar específico (PFe) de varios pares de hojas de ramas ortotrópicas de plantas de café (10 meses de edad). Valores \pm desviaciones promedio de cuatro repeticiones.

La aRN presentó un patrón idéntico al de la Fn, o sea, aumentó con la expansión de la hoja y en seguida disminuyó (Fig. 1). A su vez, el contenido de N-total también aumentó con la expansión de la hoja y permaneció casi constante en las hojas maduras.

El peso foliar específico (PFe), semejante de la AF, se incrementó con la expansión de la hoja y se mantuvo inalterado en las más viejas.

DISCUSION

El período de crecimiento comprendido entre la emergencia y la expansión total de las hojas, presenta una intensa actividad metabólica, que se manifiesta en un aumento de la fotosíntesis, de las concentraciones de Cfla y N-total, y de la aRN. Un aspecto por destacar es que después de alcanzar la expansión total, las hojas de las plantas de café continuaron acumulando clorofila, aunque en una tasa más lenta. Las plantas de cacao, que como las de café pertenecen a una especie leñosa tropical, presentan la principal síntesis de Cfla después que la hoja ha alcanzado su expansión total (1). Ese patrón de síntesis es bastante diferente del seguido por hojas de especies de clima templado, en las cuales el contenido de Cfla por unidad de área generalmente alcanza el máximo antes de la expansión total de la hoja (1).

Después de lograr la expansión total, las hojas de especies anuales entran en la fase de senectud que se caracteriza por una progresiva disminución de la tasa fotosintética, asociada a una pérdida de Cfla, N-total, proteínas, actividad de rubisco, actividad y compo-

ción de los cloroplastos y conductancia de CO₂ (7, 12, 14, 29, 30). En plantas de soja, Wittenbach *et al.* (30) verificaron que las pérdidas de Cfla y de N-total en las hojas estaban estrechamente relacionadas con la declinación de la fotosíntesis y sugirieron que eran los primeros síntomas de senectud.

En plantas de café, los resultados mostraron que el inicio del declive de la tasa de Pn no iba acompañada por caídas en las concentraciones de Cfla y de N-total; al contrario, esas concentraciones continuaron aumentando, aunque levemente. La duración del período de decadencia gradual de la fotosíntesis varía entre las especies, ya que puede abarcar pocas semanas, como en soja y cebada, meses o años, como en *Phoenix dactylifera* (17). Como el café es una especie perenne, sería poco probable que las hojas después de alcanzar la expansión total (+3 y +4) entrasen en un proceso acentuado de senectud. La conservación del peso foliar específico y los contenidos de Cfla y de N-total de las hojas maduras de plantas de café muestran que, aparentemente, no hubo movilización de compuestos de N y C hacia las partes vegetativas en crecimiento, característica del proceso de senectud (30).

La rubisco, que es la enzima carboxilativa en plantas C₃, representa alrededor del 20% del N-total de las hojas (8); cantidad que permaneció casi constante después de la expansión foliar. Por otra parte, la aRN, limitante en la incorporación del N-mineral en compuestos orgánicos (2), acompañó el decrecimiento observado en la Fn de hojas fisiológicamente maduras.

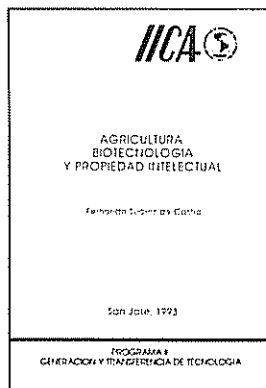
La aRN depende de la capacidad de los tejidos para sintetizar proteína (27) y del proceso fotosintético, ya sea a través del suministro de energía y de los esqueletos de C provenientes de la oxidación de los fotosintatos o directamente de las reacciones fotoquímicas de los cloroplastos (24). La semejanza entre las curvas de la fotosíntesis y de la reducción de nitratos indica una interrelación entre esos dos procesos y su importancia durante la ontogenia de las hojas de las plantas de café.

LITERATURA CITADA

1. BAKER, M.R.; HARDWICH, K. 1973. Biochemical and physiological aspects of leaf development in cocoa (*Theobroma cacao*). *New Phytologist* 72:1315-1324.
2. BEEVERS, L.; HAGEMAN, R.H. 1969. Nitrate reduction in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 20:495-522.
3. CARELLI, M.L.C.; MAGALHÃES, A.C. 1981. Development of nitrate reductase activity in green tissues of soybean seedlings (*Glycine max* L. Merr.). *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 104:17-24.
4. CARELLI, M.L.C. 1987. Estudo do processo de redução de nitrato durante o desenvolvimento inicial e no estágio reproductivo de plantas de café (*Coffea arabica* L.). Tesis Ph.D., Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, SP, Bra. 111 p.
5. CARELLI, M.L.C.; FAHL, J.I.; MAGALHÃES, A.C. 1990. Atividade da redutase de nitrato em folhas e raízes de plantas de café (*Coffea arabica* L.). *Revista Brasileira de Botânica* 13:119-123.
6. CONSTABLE, G.A.; RAWSON, H.M. 1990. Effect of leaf position expansion and age on photosynthesis, transpiration and water use efficiency of cotton. *Australian Journal of Plant Physiology* 7:89-100.
7. DAVIS, S.D.; McCREE, K.J. 1978. Photosynthetic rate and diffusion conductance as a function of age in leaves of bean plants. *Crop Science* 18:280-282.
8. EVANS, J.R.; SEEMANN, J.R. 1984. Differences between wheat genotypes in specific activity of RuBP carboxylase and the relationship to photosynthesis. *Plant Physiology* 74:759-765.
9. FAHL, J.I.; CARELLI, M.L.C. 1984. Efeitos da idade da folha e níveis de radiação sobre a taxa de fotossíntese aparente de plantas de café (*Coffea arabica* L.). In Congresso Brasileiro de Pesquisas Caffeiras (11., 1984, Londrina, PR, Bra.). Anais. Rio de Janeiro, RJ, Bra., Ministério da Indústria e Comércio, IBC, GERCA p. 220-203.
10. FAHL, J.I.; CARELLI, M.L.C.; MAGALHÃES, A.C. 1991. Medidas da fotossíntese líquida em folhas intactas de plantas de café por cromatografia a gás. *Revista Brasileira de Botânica* (Aceito para publicação).
11. FIELD, C. 1983. Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: Leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* 56:341-347.
12. FORD, D.M.; SHIBLES, R. 1988. Photosynthesis and other traits in relation to chloroplast number during soybean leaf senescence. *Plant Physiology* 86:108-111.
13. FREELAND, R.O. 1952. Effects of age of leaves upon the rate of photosynthesis in some conifers. *Plant Physiology* 27:685-690.
14. FRIEDRICH, H.W.; HUFFAKER, R.C. 1980. Photosynthesis, leaf resistances and ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase degradation in senescing barley leaves. *Plant Physiology* 65:1103-1107.
15. HARDWICH, K.; WOOD, M.; WOOLHOUSE, H.W. 1968. Photosynthesis and respiration in relation to leaf age in *Perilla frutescens* (L.). *Brit. New Phytologist* 67:79-86.
16. HARPER, J.E.; HAGEMAN, R.H. 1972. Canopy and seasonal profiles of nitrate reductase in soybeans (*Glycine max* L. Merr.). *Plant Physiology* 49:146-154.
17. HOPKINSON, J.M. 1964. Studies on the expansion of the leaf surface. IV. The carbon and phosphorus economy of a leaf. *Journal of Experimental Botany* 15:125-137.

18. KANNANGARA, C.G.; WOOLHOUSE, H.W. 1967. The role of carbon dioxide, light and nitrate in the synthesis and degradation of nitrate reductase in leaves of *Perilla frutescens*. *New Phytologist* 66:553-561.
19. KOSKI, V.M.; GREINCH, C.S.; SMITH, J.H.C. 1951. The action spectrum for the transformation of protochlorophyll to chlorophyll a in normal and albino corn seedlings. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 208:466-486.
20. LIN, Z.F.; EHLERINGER, J. 1982. Effects of leaf age on photosynthesis and water efficiency of papaya. *Photosynthetica* 16:514-519.
21. MEGURO, N.E.; MAGALHÃES, A.C. 1982. Atividade da reductase de nitrato em cultivares de café. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 17:1725-1731.
22. OLESINSKI, A.A.; WOLF, S.; RUDICH, J.; MARANI, A. 1989. Effect of leaf age and shading on photosynthesis in potatoes (*Solanum tuberosum*). *Annals of Botany* 64:643-650.
23. PIMENTEL GOMES, F. 1984. A estatística moderna da pesquisa agropecuária. Piracicaba, POTAFOS. 160 p.
24. SCHRADER, L.E.; THOMAS, R.J. 1981. Nitrate uptake, reduction and transport in whole plant. In Nitrogen and carbon metabolism. J.D. Bewley (Ed.) The Hague, Martinus Nijhoff. p. 49-93.
25. SRIVASTAVA, H.S. 1980. Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. *Review Phytochemistry* 19:725-733.
26. SMITH, J.M.C.; BENITEZ, A. 1955. Chlorophyll: Analysis in plant materials. In *Modern methods of plant analysis*. K. Paech, M.V. Travey (Eds.). Berlin, Springer-Verlag. p. 142-196.
27. TRAVIS, R.L.; KEY, J.L. 1934? Correlation between polyribosome level and the ability to induce nitrate reductase in darkgrown corn seedlings. *Plant Physiology* 48:617-620.
28. YAMAGUCHI, T.; FRIEND, D.J.C. 1979. Effects of leaf age and irradiance on photosynthesis of *Coffea arabica*. *Photosynthetica* 13:272-278.
29. WITTENBACH, V.A. 1979. Ribulose biphosphate carboxilase and proteolytic activity in wheat leaves from anthesis through senescence. *Plant Physiology* 64:884-887.
30. WITTENBACH, V.A.; ACKERSON, R.C.; GIAQUINTA, F.T.; HERBERT, R.R. 1980. Changes in photosynthesis, ribulose biphosphate carboxilase, proteolytic activity, and ultrastructure of soybean leaves during senescence. *Crop Science* 20:225-231.

LIBRO RECOMENDADO



Agricultura, Biotecnología y Propiedad Intelectual. Fernando Suárez de Castro. Programa II. 136 p. Serie Publicaciones Misceláneas (ISSN 0534-5391) AI/SC-93-05.

Importante contribución a la protección de las innovaciones tecnológicas. Se discute ampliamente el desarrollo, su relevancia actual y el potencial de las nuevas agrobiotecnologías. Además enfoca los aspectos técnicos y legales de la evolución de estas tecnologías.

US\$6.00

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.

Comparação de Substratos em Alporques de Cajueiro Anão Precoce (*Anacardium occidentale* L.) com Consequente Uso de Aluminização¹

F.A.G. Almeida*, F.C.G. Almeida*, J.J.L. Albuquerque,
M.A. Rabelo Filho**, C.A.M. Soares***

ABSTRACT

Various rooting media were tried for air layering with the aim of finding an efficient system for asexual propagation of cashew (*Anacardium occidentale* L.). The substrates used were sawdust, red sand, cattle manure, and their combinations. Best rooting was obtained with sawdust (90%), and the least efficient was with pure manure.

RESUMO

Com o objetivo de encontrar um sistema eficaz de propagação assexual para o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) comparou-se vários meios de enraizamento para o processo de alporquia. Os substratos utilizados foram pó de madeira, areia vermelha, esterco de gado bovino e suas combinações. O melhor enraizamento obtido foi com o pó de madeira (90%) e o menos eficiente foi com o esterco puro.

INTRODUÇÃO

A grande variabilidade genética do cajueiro, seu alto porte, sua baixa produtividade e a sua reduzida resistência às pragas e doenças são características que têm prejudicado, enormemente, sua exploração racional. O cajueiro anão precoce, parece ser uma boa opção para a cajucultura, mas, quando cultivado através de sementes, sem nenhum melhoramento, mostra as mesmas restrições acima referidas, apesar dele possuir uma amplitude menor de peso e tamanho de castanhas em relação ao cajueiro comum. A obtenção de progênies deste material tem demonstrado o aparecimento de indivíduos com características superiores que poderiam ser difundidos através de processos de propagação assexual.

Entre as várias técnicas conhecidas e empregadas no cajueiro, só a alporquia e a enxertia (2) têm se mostrado, até o momento, com perspectivas de uso comercial, ou, pelo menos, para obtenção de material mais homogêneo no processo de seleção.

Embora a enxertia possa parecer um método ideal de propagação assexual para o cajueiro (1, 3) ela não é uma técnica completamente assexual, pois, envolve o cavalo (parte sexual), e o cavaleiro (parte assexual) o que pode comprometer, parcialmente, o real sucesso de todo conjunto. A alporquia, constitui até o momento o único método, realmente assexual, capaz de produzir em ramos de cajueiro raízes adventícias com bastante sucesso, mas, com predominância de raízes de primeira ordem, que não são suficientes para assegurar a total pega dos alporques quando de sua separação da planta-mãe (4, 6).

Estados conduzidos por Veeraraghavan e Vasavan (7) mostraram resultados mais satisfatórios para a alporquia quando comparados com a garfaçem e com sementes na produção de mudas. Na alporquia um dos fatores restritivo a elevada percentagem de sucesso é o substrato. Normalmente, são usados substratos úmidos e porosos de modo a permitir um fácil enraizamento. Assim, os substratos bastantes usuais nos climas tropicais são turfa, perlito e esfagno (*Sphagnum moss*) uma espécie de musgo (5). O presente trabalho foi realizado com o intuito de testar o melhor substrato que permita uma maior percentagem de enraizamento no processo de alporquia em cajueiro anão.

¹ Recebido para publicação el 22 de agosto 1991.

* Eng. Agr., Ph.D., Prof. de UFC, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, Bra

** Eng. Agr., M.S., Prof. de UFC, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, Bra.

*** Eng. Agr. Bolsista do CNPq, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, Bra.

MATERIAL E MÉTODO

Dez plantas de cajueiro anão precoce do clone CP076, com cinco anos de idade, em bom estado

fitossanitário e em plena floração, submetidas á irrigação localizada, situadas na área experimental da Fazenda Garrote, no município de Caucaia, Ceará, a 23 km de Fortaleza, foram utilizados para este trabalho, que foi conduzido no período de 13 de março a 19 de maio de 1990.

Sete tratamentos com dez repetições, em um delineamento experimental inteiramente casualizado, foram usados neste estudo. Os tratamentos foram: (1) pó de madeira, (2) areia vermelha, (3) esterco bovino, (4) 50% pó de madeira mais 50% areia vermelha, (5) 50% pó de madeira mais 50% esterco bovino, (6) 50% areia vermelha mais 50% esterco bovino e (7) 33.3% pó de madeira, 33.3% areia vermelha e 33.3% esterco bovino. Este sete substratos foram aplicados em cada uma das dez diferentes plantas do ensaio.

Ramos lenhosos, com diâmetro médio de 1 cm a 2 cm foram anelados à 20 cm - 30 cm do broto terminal, com um comprimento aproximado de 2 cm. Sacos plásticos e transparentes com capacidade de 1 kg e com espessura de 0.10 mm foram utilizados para esta pesquisa. Usou-se um volume aproximado de 250 ml - 300 ml do substrato na feitura de cada alporque. O amarrilho utilizado foi de plástico, o qual é encontrado em lojas especializadas no ramo. O pó de madeira foi umedecido, previamente, 24 horas antes da realização dos alporques, e, novamente, junto com os outros substratos, até o ponto de capacidade de campo, por ocasião de sua feitura. Procurou-se deixar o anel, mais ou menos, no meio do volume do substrato estudado, tendo o cuidado de compactá-lo, muito bem, e de conduzir uma amarração normal nas suas porções topo e basal, afim de não deixá-lo nem frouxo, nem muito apertado, principalmente, na sua parte superior, o que possivelmente prejudicaria o processo de enraizamento.

Semanalmente, e, até a décima segunda semana após a realização do alporque, era observado o aparecimento de raiz fora do "bolo" do substrato. Quando detectada a raiz adventícia de primeira ordem (aquela produzida diretamente do ramo) procedeu-se o envelopamento do alporque, com papel alumínio, deixando-o por quatro semanas, o mesmo período em que se começou a detectar o surgimento das raízes adventícias de primeira ordem. Este procedimento serviu para provocar a produção de raízes adventícias de primeira e segunda ordens, respectivamente.

Os dados referentes a percentagem de alporques com raízes adventícias de 1a ordem e de 2a e 3a ordens

após o envelopamentos foram analisados por testes de comparação de médias.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A percentagem de alporques com raízes adventícias de primeira ordem em relação ao substrato utilizado consta na Quadro 1. O substrato constituído de pó de madeira foi o melhor com 90% de enraizamento seguido do substrato formado pela combinação equitativa de pó de madeira e areia vermelha com 60%. A areia vermelha isolada atingiu apenas a 50%. Os demais substratos apresentaram baixas percentagens de enraizamento variando de 30% (50% de pó de madeira mais 50% de esterco e pó de madeira, areia vermelha e esterco em iguais proporções) até 0%, com o esterco isolado. As comparações entre os vários substratos foram feitas pelo teste de Tukey.

Quadro 1. Comparação de substratos no enraizamento de alporques de cajueiro anão precoce (*A. occidentale* L.).

Substratos	Enraizamento (%)
Pó de madeira	90 a
50% pó de madeira + 50% areia vermelha	60 ab
Areia vermelha	50 b
50% pó de madeira + 50% esterco	30 c
33.3% pó de madeira + 33.3% areia vermelha + 33.3% esterco	30 c
50% areia vermelha + 50% esterco	10 c
Esterco	0 c

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Pelos resultados obtidos verifica-se que o pó de madeira isolado ou em combinação com areia vermelha apresentou as maiores percentagens de enraizamento, em virtude, possivelmente, da sua maior capacidade de aeração ou de estabelecer uma temperatura favorável ao enraizamento. Por outro lado, o esterco quando isolado ou em combinação com os outros materiais mostrou uma ação inibitória a este enraizamento.

Com relação ao envelopamento com papel alumínio, por quatro semanas, após a detecção das raízes adventícias de 1a ordem, constatou-se 100% de produção de raízes adventícias de 2a e 3a ordens em todos os substratos enraizados.

CONCLUSÕES

1. Pó de madeira isolado apresentou a maior porcentagem de sucesso no enraizamento de alporques de cajueiro anão precoce.
2. O esterco não deve ser usado como substrato tendo em vista sua ação inibidora no enraizamento de alporques de cajueiro anão.
3. O envelopamento com papel alumínio, após a emissão de raízes adventícias de 1ª ordem induz à produção de raízes adventícias de 2ª e 3ª ordens.

LITERATURA CITADA

1. BARROS, L.; ARAUJO, F.E. DE; ALMEIDA, J.I.L. DE; TEIXEIRA, L.M. S. 1984. A cultura do cajueiro anão. Fortaleza, EPACE. EPACE Documentos no. 3. 67 p.
2. LIMA, V. DE P.M. 1988. Cultura do cajueiro no nordeste do Brasil. Fortaleza, BNB. Esc. Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste. Estudos Econômicos e Sociais no. 35. 486 p.
3. NAGABHUSHANAM, S. 1983. A study on epicotyl grafting in cashew (*Anacardium occidentale* L.). Indian Cashew Journal 15 (1):13-16.
4. NAMBIAR, M.C. 1974. Recent trends in cashew research. Indian Cashew Journal 9(9):20-2.
5. NELSON, R. 1953. High humidity treatment for airlayers of Aychee. Proceedings of the Florida State Horticulture Society 66:108-109.
6. PHADNIS, N.A.; CHOUDHURY, K.G.; BANDEKAR, D.G. 1974. Studies in the raising of cashew (*Anacardium occidentale* L.) clonal material "in situ". Indian Cashew Journal 8(2):7-13.
7. VEERARAGHAVAN, P.G.; VASAGAN, M.G. 1977. Trials on planting material on cashew. Agricultural Research Journal of Kerala 15(2):204.